ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1981 N° 3

Adultération des laits et fromages de chèvres de Touraine par addition de lait de vache

---

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire

(Diplôme d'État)

présentée et soutenue publiquement 1981

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

BONHOMME Dominique, Pierre

Né le 1er février 1955 à SURESNES (Hauts-de-Seine)

Membres du Jury :

Président : M. ROUX, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. LABIE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. EECKHOUTTE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

---

DACTYLO-SORBONNE

8, rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1981 N° 3

Adultération des laits et fromages de chèvres de Touraine par addition de lait de vache

---

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire

(Diplôme d'État)

présentée et soutenue publiquement

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

BONHOMME Dominique, Pierre

Né le 1er février 1955 à SURESNES (Hauts-de-Seine)

Membres du Jury :

Président : M. ROUX, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. LABIE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. EECKHOUTTE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

---

DACTYLO-SORBONNE

8, rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Ministère de l'Agriculture

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. LAUTIE

Directeurs honoraires ..... MM. PONS
FLORIO

Professeurs honoraires ..... MM. BRIZARD
BERTHELON
SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... MM. RIGO
Professeur sans chaire ..... BRAUN
Maître-Assistant ..... BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie Biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... MM. PAVAUX
Maître-Assistant ..... LIGNEREUX
Maître-Assistant ..... SAUTET

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé ..... TOUTAIN

Physiologie - Thérapeutique et
Pharmacodynamie

.../

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire	CABANIE
Maître Assistant Agrégé	MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	MM. LABIE
Maître de Conférences	EECKHOUTTE
Maître-Assistant	Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'Origine Animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	MM. DORCHIES
Maître de Conférences	FRANC
Maître-Assistant	DUCOS DE LAHITT

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire	MM. LESCURE
Maître de Conférences	GUELFI

Sémiologie et Pathologie Médicale des
Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie
Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire	MM. TOURNUT
Maître de Conférences	BEZILLE
Maître-Assistant	JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour - Clinique
Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire	MM. CAZIEUX
Maître-Assistant Agrégé	GENEVOIS
Maître-Assistant	AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie
Chirurgicale - Clinique

.../

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	MM.	FERNEY
Professeur sans chaire		ROYAL
Maître-Assistant Agrégé		TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	MM.	CHANTAL
Maître de Conférences		GANIERE
Maître-Assistant		PICAVET

Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	MM.	LAUTIE
Maître-Assistant		PELLERIN

Microbiologie - Immunologie
Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire	MM.	QUEINNEC
Professeur sans chaire		DARRE
Maître-Assistant	Mme	QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène Générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des Productions Animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	MM.	FALIU
Professeur sans chaire		GRIESS

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 Mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 Juin 1924.

A notre Jury de Thèse,

Monsieur le Professeur ROUX,

de la Faculté de Pharmacie de TOULOUSE,

Qui nous a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

Monsieur le Professeur LABIE,

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE,

Qui a accepté et corrigé notre travail.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre reconnaissance.

Hommage respectueux.

Monsieur le Professeur EECKHOUTTE,

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE,

Qui a bien voulu faire partie de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Madame BERNARD,

Maître Assistant de l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE,

Pour l'aide précieuse qu'elle nous a apportée dans la rédaction de ce travail.

Qu'elle trouve ici le témoignage de notre vive reconnaissance.

Au Docteur BOUTEGEGE,

Directeur des Services Vétérinaires d'Indre-et-Loire,

Au Docteur BIND,

Directeur du Laboratoire des Services Vétérinaires d'Indre-et-Loire,

Au personnel du Laboratoire de la Direction des Services Vétérinaires d'Indre-et-Loire.

En témoignage de nos remerciements.

P L A N

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : Caractéristiques économiques de la production de lait et de fromages de chèvre en Touraine

I/ Le cheptel caprin

1) Le cheptel national
2) Le cheptel de la Région Centre - La Touraine
3) Les zones d'élevage
4) Les organisations professionnelles

II/ La production des laits et fromages

A/ Le lait

1) Généralités
2) La collecte
3) Les prix

B/ Les fromages

1) Les différents fromages de Touraine
   a) Le Sainte Maure
   b) Le Valençay - Levroux
   c) Le Pouligny St.Pierre
   d) Le Selles sur Cher
2) Organisation de la production
   a) Les éleveurs - producteurs

b) Les affineurs
c) Les laiteries

III/ La commercialisation

1) Les circuits de distribution
2) La vente du Sainte Maure fermier en Touraine
3) La vente du fromage laitier

Conclusion

DEUXIEME PARTIE : Les méthodes de détection des adultérations des laits de chèvre

A/ Composition comparée des laits de vache et de chèvre

1) Les matières grasses
2) Les matières azotées
a) Les substances azotées non protéiques
b) Les caséines
c) Les protéines solubles

B/ Les méthodes immunologiques de détection des adultérations

1) Choix de l'antigène
2) Choix de l'animal producteur de l'antisérum
3) Choix de la technique de mesure de la réaction Antigène-Anticorps
a) Les méthodes semi-quantitatives : immuno précipitation en milieu gélosé
b) Les méthodes quantitatives
) l'inhibition de l'hémagglutination
) l'immunc diffusion radiale

C/ Les méthodes physico-chimiques

1) Analyse des matières grasses
2) Analyse électrophorétique des caséines

TROISIEME PARTIE : Appréciation du niveau des fraudes dans le département d'Indre et Loire

A/ Fraudes au stade de la production laitière

1) Les prélèvements - distribution
   - identification
2) Les analyses
3) Les résultats
4) Interprétation
5) Comparaison avec d'autres études

B/ Fraudes dans la production fromagère

1) Les prélèvements
2) Détermination de la matière sèche
   a) principe de la thermobalance
   b) mesure de l'extrait sec
   c) mesure de la matière sèche par la méthode officielle
3) Analyses
4) Les résultats
5) Interprétation

QUATRIEME PARTIE : Electrophorèse des protéines solubles en colonne de gel de polyacrylamide

1) Rappel sur l'électrophorèse
2) La migration électrophorétique
   a) Le matériel utilisé

b) Les réactifs
c) Les échantillons
d) L'électrophorèse proprement dite
e) Coloration des gels
f) Lecture

3) Avantages et limites de la méthode

CONCLUSION

-:-

INTRODUCTION

Un lait peut se falsifier de trois façons : par mouillage (addition d'eau), par écrémage, par substitution (addition d'un lait d'une espèce différente).

Ce dernier moyen, qui retiendra notre attention, ne peut se concevoir que dans des régions d'élevage mixte (bovin-caprin, bovin-ovin, ovin-caprin) où les différentes valeurs marchandes des laits de vache, de chèvre et de brebis peuvent inciter à les mélanger en vue de réaliser un bénéfice illicite.

La Touraine, zone de polyculture, de vignoble et d'élevage laitier bovin et caprin va nous permettre d'apprécier l'importance de cette falsification en étudiant l'adultération des laits de chèvre par l'adjonction de lait de vache.

L'élevage des chèvres en Touraine remonterait à l'époque carolingienne (VIII et IXe siècle) et aurait été importé au moment des invasions arabes (31). Il fut longtemps réservé aux pauvres et aux femmes ; l'effectif moyen des troupeaux restait alors faible et la production fromagère minime et familiale.

La demande constante de ces deux dernières décennies en fromages de chèvre a modifié les structures tradition-

nelles de cet élevage. Sous l'impulsion des laiteries et de certains éleveurs, la fabrication des fromages s'est industrialisée, la conduite des troupeaux modernisée. Nous étudierons dans une première partie les caractéristiques économiques actuelles de la production de lait et de fromages dans cette région ; nous envisagerons ensuite les diverses techniques de recherche de l'adultération et tenterons d'en apprécier l'importance en recourant à l'immuno diffusion radiale type Mancini ; enfin, parallèlement à ce dépistage, nous avons voulu essayer une méthode électrophorétique rapide de détection de cette fraude dont nous présenterons le protocole dans une dernière partie.

-:-

PREMIERE PARTIE

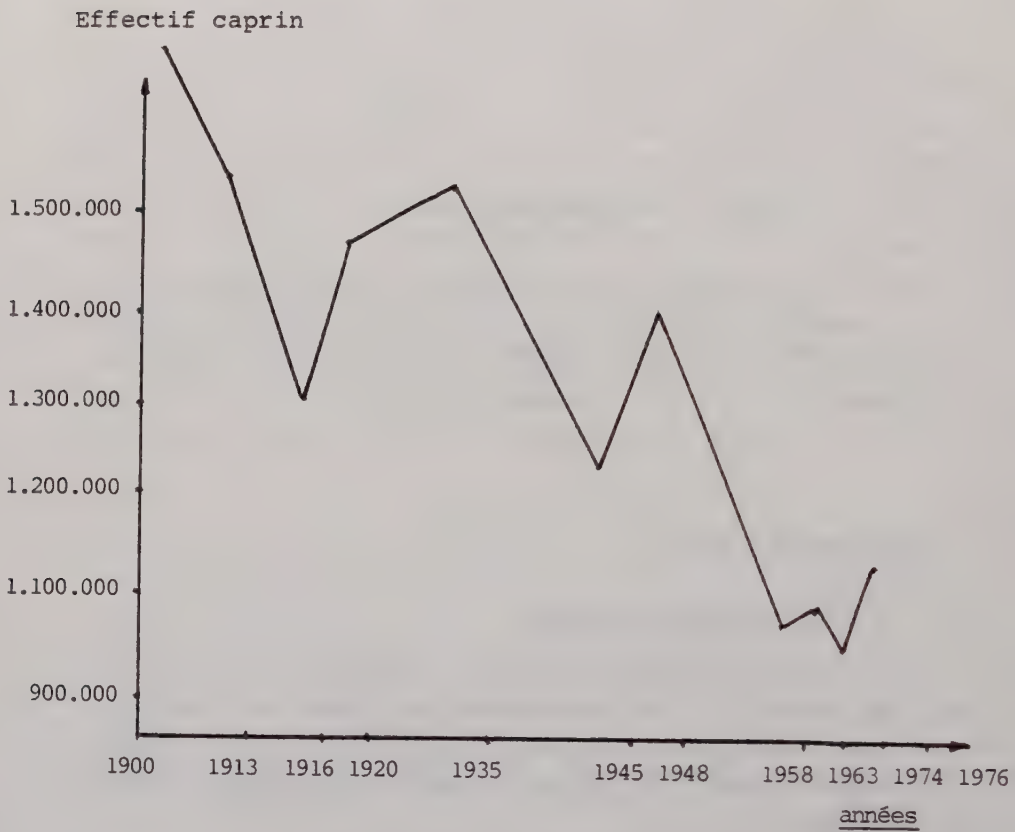
CARACTERISTIQUES ECONOMIQUES DE LA PRODUCTION DE LAIT ET DE FROMAGES DE CHEVRE DE TOURAINE

I/ Le cheptel caprin

1) Le cheptel national

Le cheptel caprin national, constitué d'environ 990 000 têtes en 1976, représente le 1/400e de la population caprine mondiale. On évalue en effet à 400 millions l'effectif mondial dont plus du quart appartient à l'Inde et à la Chine.

La régression constante constatée en France depuis le début de ce siècle (42 % de l'effectif entre 1900 et 1972) s'est atténuée en 1972 et l'on assiste à l'heure actuelle à une stabilisation voire à une remontée de l'effectif national global (15).



Courbe n°1 : Evolution de l'effectif caprin de 1900 à 1976 selon FATOUX (La chèvre, 1977).

2) Le cheptel de la région Centre - La Touraine

La région Centre, constituée des départements du Cher, de l'Eure-et-Loir, de l'Indre, de L'indre-et- Loire, du Loir-et-Cher et du Loiret, traditionnellement zone d'élevage caprin, favorisée par un réseau relativement dense de laiteries et d'affineurs assurant la collecte des

laits et fromages de chèvre, a vu son effectif diminuer de près de 24 % depuis 1961 (15).

Les causes de cette régression sont multiples : abandon de l'élevage en général, spécialisation vers un seul type de production animale, orientation céréalière. Malgré cette diminution et grâce à la stabilisation constatée depuis 1973, le Centre, avec 14,7 % du cheptel français (5) occupe le 3e rang des régions françaises derrière la région Rhône-Alpes et le Poitou-Charentes.

La Touraine

L'ancienne province de Touraine était, sous l'Ancien Régime (cf.carte n°1), limitée au Nord par le Maine, à l'Est par le Blésois, au Sud-Est par le Berri, au Sud-Ouest par le Poitou et à l'Ouest par l'Anjou.

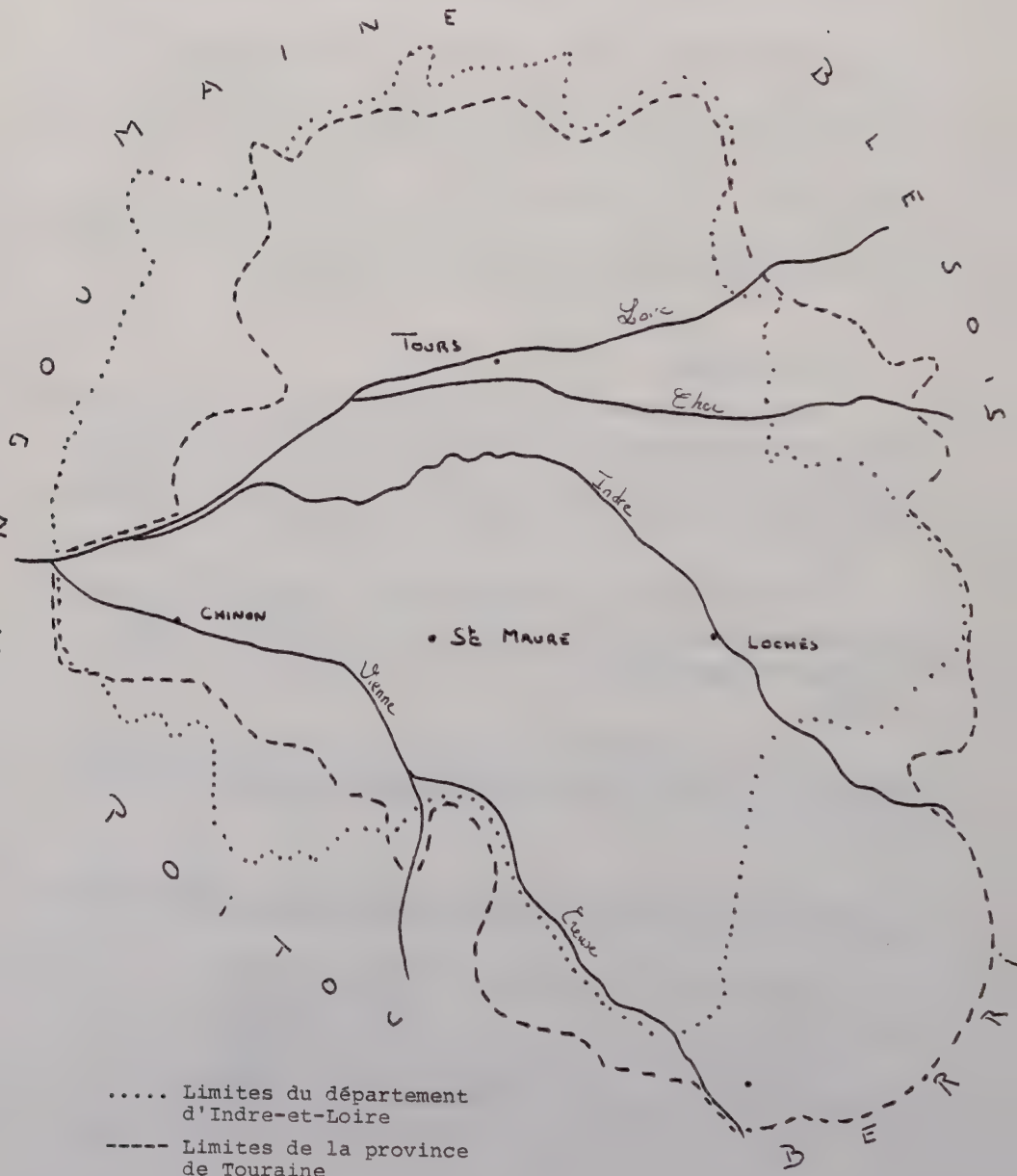
Le département d'Indre-et-Loire (carte n°1) recouvre pratiquement le territoire de cette ancienne région de France (CHAUVIGNE) (7).

Selon Y. BEAUDET il existe en Touraine 25 à 30 000 caprins, soit le 1/5 de la région Centre, répartis chez 3 800 éleveurs.

Selon les statistiques du Ministère de l'Agriculture (R.G.A. 1970)

84 % des éleveurs ont moins de 7 chèvres
98 % " " " de 20 chèvres
99 % " " " de 50 chèvres
0,7 % " " ont plus de 50 chèvres

Carte de la province de TOURAINE en 1766
d'après Auguste CHAUVIGNÉ (1890)



Selon le tableau n °I emprunté au Service Régional de Statistique Agricole, les troupeaux caprins se trouvent dans les exploitations de toutes tailles, les plus importants (50 chèvres et plus) appartenant principalement (85 %) aux exploitations de superficie moyenne et grande (20 hectares et plus).

	Toutes exploitations	Exploitations ayant des chèvres
moins de 5 ha	41,0	24,6
5 à 20 ha	23,9	28,3
20 à 35 ha	14,6	21,4
35 à 50 ha	9,5	13,0
50 à 100 ha	9,6	11,8
100 ha et plus	1,4	0,9

Tableau n°I : Répartition des exploitations selon la classe S.A.U. en Indre-et-Loire

Selon la F.G.D.S., 17 614 caprins ont été soumis au contrôle obligatoire de la brucellose, chez 1 237 éleveurs, pendant la campagne 1978-79.

Ce chiffre, nettement plus bas que celui avancé précédemment, s'explique par les retards dans l'exécution des plans de prophylaxie de la brucellose caprine, par l'absence et le non-recensement des élevages de moins de 4 têtes et de moins de 1 ha, élevages en quantité non négligeable en Touraine, et par le fait que seuls sont pris en compte les adultes.

3) Les zones d'élevage

Deux zones de forte densité caprine existent en Touraine (voir carte n°2) :

- La région du plateau de Sainte Maure de Touraine au Sud de Tours

- La région de Chinon à l'Ouest - Sud Ouest du département.

4) Les organisations professionnelles

Pour la plupart des détenteurs de chèvres, la petitesse de l'effectif et du revenu qui en découle fait qu'ils n'engagent qu'un minimum de dépenses pour aménager leurs locaux (laiteries, fromageries, étables), pour améliorer l'état sanitaire de leurs troupeaux et pour défendre leurs intérêts au sein d'organisations spécifiques.

Le contrôle laitier, la sélection, l'amélioration de la qualité des fromages ne sont possibles que pour un faible nombre d'entre eux.

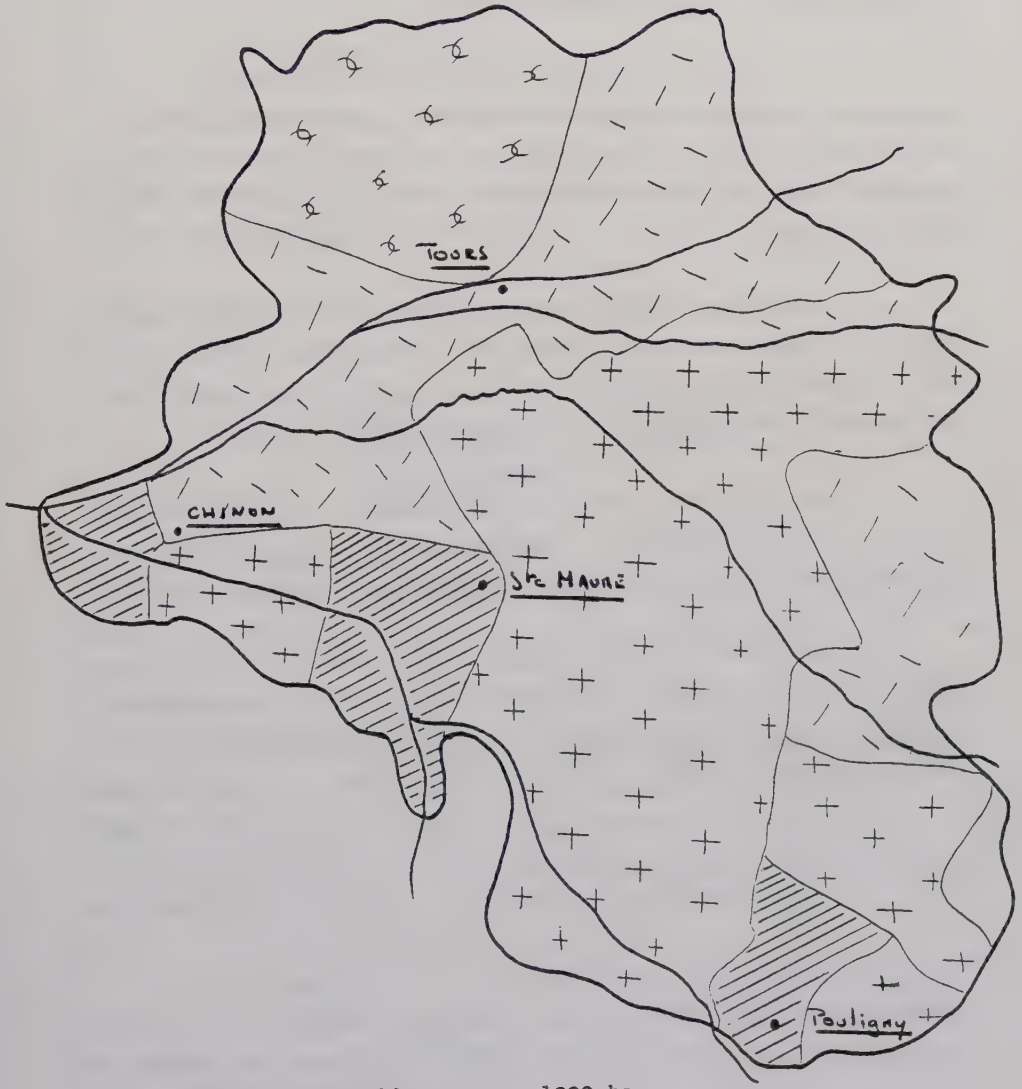
L'organisation de la profession, la défense des productions sont donc difficiles à mettre en place ; cependant des structures particulières existent, telles que :

- Le Contrôle laitier (U.P.R.A. Caprine : (Unité nationale de sélection et de promotion des races caprines), auquel 64 élevages avec un total de 3 400 chèvres, sont inscrits (1979) (4) ;

- Le Syndicat caprin, qui regroupe une centaine de membres actifs ;

Carte n°2 : Effectifs de chèvre pour 1000 hectares de S.A.U. en Touraine

Source : R.G.A. 1970



100 et plus chèvres pour 1000 ha
50 à 99 " " "
25 à 49 " " "
15 à 24 " " "

- Le Groupement d'Intérêt Economique Caprin (Poitou-Charentes-Centre), dont la finalité est l'amélioration génétique des chèvres par l'octroi de primes en fonction de la qualité du lait et des animaux ;

- Le S.Y.N.D.E.X.A.L. (Syndicat d'expansion et d'exportation de caprins de race alpine), regroupant 120 éleveurs dont 60 en Indre-et-Loire et dont le but est la constitution de "pépinières chevrettes" et la vente d'animaux de valeur ;

- L'U.P.R.A. caprine, qui tient les livres généalogiques et réalise des programmes de sélection dont l'objet est de promouvoir et de contrôler toutes les actions susceptibles d'améliorer les races caprines ;

- Le F.G.D.S. (Fonds de Groupement de défense sanitaire), qui s'occupe de la prophylaxie de la brucellose, des mammites et du contrôle des machines à traire ;

- L'E.D.E. (Etablissement départemental de l'élevage), qui assure par l'intermédiaire de son technicien la vulgarisation des techniques auprès des éleveurs avec l'aide des structures ci-dessus énumérées.

II/ La production des laits et fromages

A/ Le lait

1) Généralités

La production nationale de lait de chèvre était de 375 millions de litres en 1975 (21) ; la production d'Indre-et-Loire en 1979 était voisine de 110 000 hl selon Y. BEAUDET (collecte laitière).

Schématiquement, on admet que le lait de chèvre est utilisé pour:

- 75 % à la fabrication du fromage
- 20 % à l'allaitement des chevreaux
- 5 % à l'autoconsommation

- L'autoconsommation, difficile à chiffrer, a pratiquement disparu selon nous en Indre-et-Loire, malgré les vertus de reconstituant et de tonique accordées au lait de chèvre.

- L'allaitement naturel est surtout le fait de petits élevages, les exploitants de plus grande envergure n'utilisent le lait maternel que pendant les 8 premiers jours ; un aliment lacté reconstitué est ensuite distribué aux chevreaux jusqu'à l 'âge de 8 à 10 semaines.

- La fabrication du fromage est le fait soit du producteur (fromage fermier), soit d'une laiterie (Coopérative ou entreprise privée) (fromage laitier) obligeant à une collecte régulière.

2) La collecte

La collecte du lait dans les exploitations est le plus souvent assurée par des laiteries mixtes (collectant aussi le lait de vache). La mixité du ramassage peut être l'occasion d'adultérations accidentelles par mélange de lait.

En Indre-et-Loire, 40 % des éleveurs caprins vendent leur production au laitier ; une dizaine de coopératives, dont trois d'importance, assurent le ramassage annuel de 110 000 hl soit environ 60 % de la production départementale.

Les laiteries collectent le lait d'exploitations de taille variable ; leur clientèle se compose :

- d'élevages caprins d'importance mineure (4 à 5 chèvres)
- d'élevages spécialisés de grande taille, orientés uniquement vers la production laitière.

Chez les producteurs les plus importants, le lait est conservé 2 à 3 jours en bidons ou en tanks réfrigérés.

Le lait de Touraine est collecté par dix laiteries (voir le tableau n°II) :

2	organismes	traitent	plus de 15 000 hl par an
1	"	"	de 10 à 15 000 hl par an
2	"	"	de 5 à 10 000 hl par an
4	"	"	de 1 à 5 000 hl par an
1	"	"	moins de 1000 hl par an

Le rayon de ramassage est fonction de l'importance de la coopérative ; il oscille entre 30 et 100 km. Le nombre de producteurs est aussi fonction de la capacité de la collecte ; BOISGARD a pu dresser une liste de ces entreprises selon le nombre de leurs adhérents :

Coopérative de Ligueil	2 100	éleveurs	16 470	chèvres
Verneuil	586	"	4 968	"
Reignac	211	"	1 650	"
Vallée du Nahon	1 500	"		
Anjouin	250	"		
Préval	115	"		
Berry lait	150	"		
Jacquin	30	"		
Delavaud	25	"		

La carte n°3 permet de situer ces coopératives ; elles sont nombreuses dans les zones traditionnelles d'élevage caprin qui sont le Sud-Est de l'Indre-et-Loire, le Nord et Nord-Ouest de l'Indre et le Sud du Loir-et-Cher tandis que les zones de faible densité caprine en sont dépourvues.

Carte n°3 - Situation des Laiteries et coopératives récoltant le lait de chèvre

Tableau n°II -

Collecte et prix du lait de chèvre par établissement en 1979

Etablissement n°	Collecte annuelle (hl)	Prix moyen annuel (francs)
1	18 119	1,940
2	2 947	2,047
3	1 009	1,917
4	19 575	1,952
5	7 264	1,913
6	10 730	1,953
7	584	1,835
8	2 397	1,954
9	4 164	1,975
10	5 389	1,900
TOTAUX	72 178	1,945

Source : Service Statistique d'Indre-et-Loire
(Direction départementale de l'agriculture)

3) Les prix

Le marché du lait et du fromage de chèvre ne fait l'objet d'aucune réglementation ; de ce fait, le prix du lait résulte de la confrontation de l'offre et de la demande en fonction des prix des fromages.

Les fluctuations saisonnières de la production se répercutent sur les prix pratiqués par les laiteries comme en témoignent les tableaux n°III, IV et la courbe n°2.

Les prix forts se situent vers novembre, décembre, janvier, époque de faible production, les prix les plus bas en mai-juin, époque de pléthore relative. La différence de prix entre ces extrêmes atteint dans les départements du Centre 39 % du prix moyen annuel.

Un paiement à la qualité, notamment en fonction de la matière utile (matière grasse, matière azotée), n'est pas encore institué mais on note une sensibilisation à ce problème chez certains éleveurs et chez les transformateurs, le paiement au seul volume pénalisant l'élevage de qualité et risquant de compromettre un effort de sélection orienté vers une amélioration des aptitudes fromagères.

La seule prime accordée par certaines laiteries est la prime au refroidissement, voisine de 8 centimes par litre.

Tableau n°III - Prix moyen pondéré du lait de chèvre en 1978 (La chèvre - nov.déc.1979)

Région / Mois	Centre	Centre-Ouest	Sud-Ouest	Sud-Est	France
janv.	1,92	2,08	2,04	1,86	2,05
fév.	1,94	2,02	1,97	1,85	2,00
mars	1,76	1,83	1,79	1,64	1,81
avril	1,57	1,65	1,63	1,43	1,62
mai	1,51	1,61	1,58	1,28	1,57
juin	1,52	1,64	1,58	1,29	1,60
juil.	1,55	1,69	1,65	1,36	1,65
août	1,60	1,76	1,75	1,45	1,72
sept.	1,71	1,89	1,84	1,53	1,34
oct.	1,78	2,08	1,97	1,76	2,01
nov.	1,97	2,23	2,12	1,90	2,16
déc.	2,16	2,30	2,16	2,07	2,28
prix moyen annuel	1,64	1,79	1,73	1,48	1,75
valeurs extrêmes	1,51 2,16	1,61 2,30	1,58 2,16	1,28 2,07	1,57 2,28
écarts des prix en valeur absolue	0,65	0,69	0,58	0,79	0,71
en % du prix annuel moyen pondéré	39 %	38 %	33 %	53 %	40 %

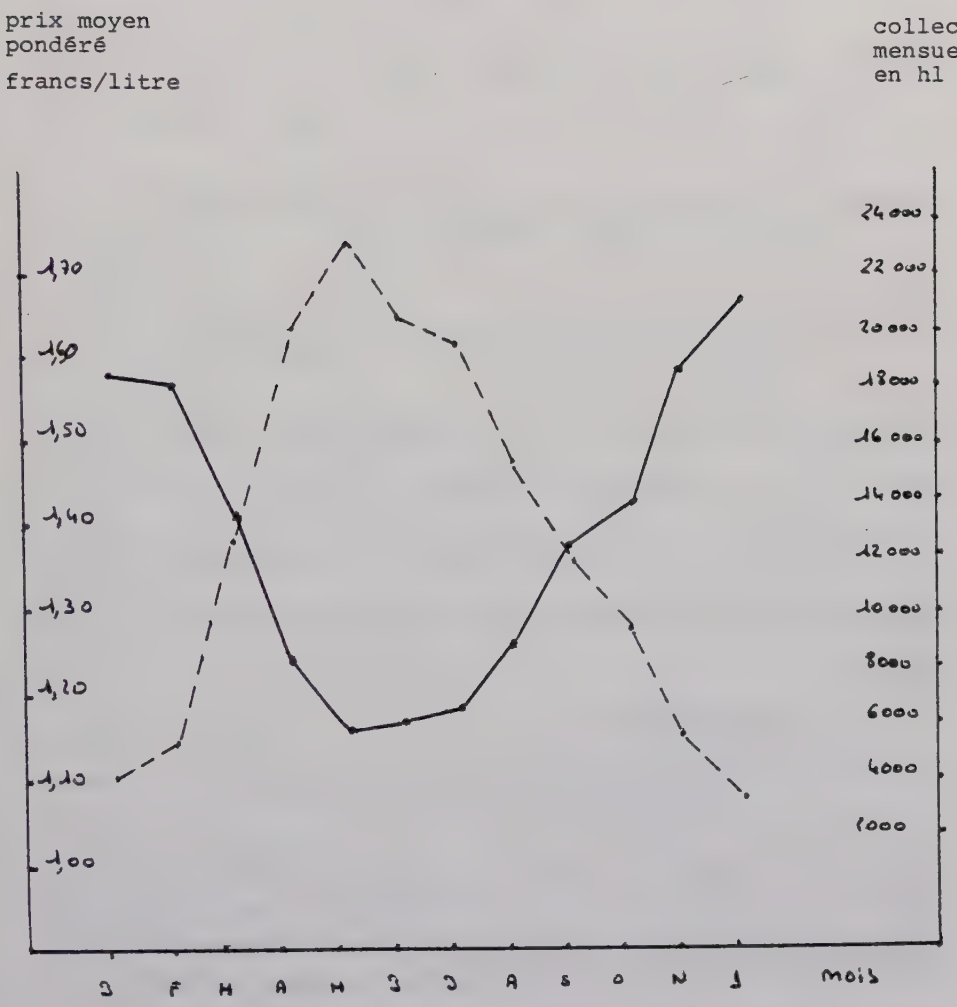
Prix payés à la production, toutes qualités confondues, primes et compléments compris sauf primes de réfrigération.

Tableau n°IV - Variations mensuelles du prix et de la collecte quel que soit l'Etablissement collecteur en Touraine (1979)

Mois	Collecte mensuelle (hl)	Prix moyen mensuel (francs)
Janvier	1 341	2,216
Février	2 158	2,216
Mars	5 055	2,116
Avril	8 281	1,930
Mai	10 974	1,834
Juin	10 385	1,817
Juillet	9 848	1,851
Août	8 433	1,877
Septembre	6 533	1,955
Octobre	4 769	2,060
Novembre	2 704	2,317
Décembre	1 677	2,391
TOTAUX	72 178	1,945

Service Statistique - Direction Départementale de l'Agriculture, Indre-et-Loire

Courbe n°2 : Evolution mensuelle du prix moyen du lait de chèvre et de la collecte industrielle en 1975 (Source : I.T.O.V.I.C.)



- Comparaison des prix du lait de chèvre et de vache

Le litre de lait de chèvre, comme le montre le tableau n°V ci-dessous, vaut en moyenne deux fois plus cher que celui de vache. On conçoit donc le bénéfice qu'un individu peu scrupuleux, producteur ou transformateur, pourrait réaliser en mélangeant ces deux laits.

Tableau n°V - Comparaison des prix du lait de vache, de chèvre, de brebis (LEJAOUEN) (23)

Lait	Prix annuels, en francs courants à la production, des laits de 1969 à 1978									
	1969	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978
Vache (kg)	0,48	0,52	0,60	0,65	0,68	0,75	0,84	0,87	0,89	0,96
Chèvre(P)	0,75	0,80	0,91	1,06	1,14	1,22	1,30	1,47	1,58	1,75
Brebis(P)	1,56	1,68	1,88	1,97	2,10	2,35	2,67	2,91	3,14	3,34

B/ Les fromages

1) Les différents fromages de Touraine

Selon le décret n°71 925 du 18 novembre 1971, la dénomination "fromage de chèvre" ou "bleu de chèvre" est réservée aux fromages de forme et de poids variables préparés exclusivement avec du lait de chèvre. Ces fromages doivent contenir au moins 45 g de MG pour 100 grammes de fromage après complète dessication.

La dénomination "fromage mi-chèvre" est réservée aux fromages préparés avec un mélange de lait de vache et de lait de chèvre contenant au minimum 50 % de lait de chèvre.

Les illustrations, mentions ou signes quelconques, relatifs à l'élevage caprin, ne sont autorisés que pour la vente des fromages de chèvre et des fromages mi-chèvre.

Les fromages de chèvre et les fromages mi-chèvre peuvent être fabriqués avec du lait de chèvre détenu et utilisé sous ses différents modes de conservation et de report (lait de chèvre concentré ou sec, caillé de lait de chèvre congelé).

Les formes traditionnelles ci-dessous sont réservées exclusivement aux fromages de chèvre :

a) cylindre de 60 mm de diamètre au maximum et dont la longueur est comprise entre 10 et 20 cm ;

b) cylindre de 65 mm au maximum dit "bonde" et dont la hauteur est comprise entre 5 et 7 cm ;

c) pyramide ou tronc de pyramide, quelles que soient la forme de la base ainsi que les dimensions de la base et de la hauteur.

En Indre-et-Loire, il n'existe qu'un seul fromage de chèvre de grande réputation : le Sainte Maure ; cependant, nous pouvons inclure dans notre étude des fromages de Touraine, en raison de l'imprécision des limites actuelles de cette province, les :

- Selles-sur-Cher
- Valençay ou Levroux
- Pouligny Saint-Pierre

qui sont tous des fromages de chèvre de grande qualité, contribuant au renom de la gastronomie tourangelle.

a) Le Sainte-Maure (article 10 ter du décret du 18 novembre 1971)

Le Sainte-Maure est certainement le fromage de chèvre le plus apprécié et le plus connu des consommateurs ; c'est un cylindre de 15 à 20 cm de long et de 6 à 8 cm de diamètre, pesant 150 à 200 g, contenant 45 % de MG et 90 g de MS au minimum, obtenu par coagulation lactique du lait de chèvre avec addition d'une faible quantité de présure.

Son moulage s'effectue à la louche sans préégouttage, le salage se fait au sel blanc. Il est recouvert, en production laitière, de moisissures bleutées, et en production industrielle, de moisissures blanches.

L'article 10 ter du décret du 18 novembre 1971 ne définit pas de zone de production ; il réserve par contre la dénomination Sainte-Maure aux seuls fromages de chèvre satisfaisant aux conditions ci-dessus énumérées.

. Arrêté préfectoral de région du 18 décembre 1979: le Sainte-Maure de Touraine

Selon cet arrêté, la dénomination "Sainte-Maure de Touraine" est réservée à un fromage de chèvre cylindrique, d'environ 5 cm de diamètre et 15 à 20 cm de longueur, à pâte molle légèrement salée, non cuite, présentant une croûte à moisissures blanches ou bleutées selon qu'il est saupoudré ou non de charbon de bois.

Carte n°4 - Localisation des fromages de chèvre

Le fromage de fabrication fermière doit obligatoirement présenter une moisissure gris-bleuté.

Le lait utilisé pour la fabrication du "Sainte-Maure de Touraine" sous label régional est collecté en Indre-et-Loire ; toutefois, le ramassage est autorisé dans les cantons limitrophes du Loir-et-Cher et de l'Indre; :

- Loir-et-Cher : Montoire, St.Amand Longpré, Herbault, Montrichard, St Aignan/Cher
- Indre; Valençay, Ecueillé, Chatillon/Indre Mézières en Brenne, Tournon St.Martin.

La fabrication et l 'affinage du fromage "Sainte-Maure de Touraine" s'effectuent exclusivement dans cette zone.

Le Sainte-Maure doit, pour bénéficier du label "de Touraine", être obtenu par coagulation lactique du lait de chèvre entier, avec addition d'une faible quantité de présure ; le caillage s'effectue en 15 à 30 heures. Le préégouttage et l'emploi de caillé congelé sont formellement interdits (même pour les fromages laitiers).

Les moules sont cylindriques ou légèrement coniques; leurs dimensions sont les suivantes: :

. 53 à 60 mm de diamètre intérieur
. 220 à 280 mm de longueur

L'utilisation du multimoule est tolérée.

La durée de l'affinage est de 8 jours minimum à compter du jour de fabrication.

. Conditions d'étiquetage du Ste Maure de Touraine

Chaque fromage, qu'il soit commercialisé individuellement ou en plateau, est obligatoirement muni d'une éti-

quette informative sur laquelle figurent :

. la mention "Ste Maure de Touraine " produit sous label régional n°00878
. le nom et l'adresse du producteur
. le numéro d'homologation du produit

Une étiquette verte portant la mention "fermier" est réservée aux producteurs fermiers transformant le lait produit sur leur exploitation. Les affineurs peuvent en bénéficier si le fromage qu'ils collectent et affinent est de fabrication fermière.

Une étiquette rouge est réservée aux fromages de laiterie.

La création de ce label "Sainte Maure de Touraine" est une réaction au flou législatif qui entourait la production du Sainte-Maure, que l'on fabrique aussi en Poitou, en Bretagne, etc...

La difficulté de définir une aire précise de production et une nette originalité du produit sans léser de nombreux éleveurs n'a pas permis la création d'une appellation d'origine contrôlée, solution qui protège beaucoup mieux un fromage, comme en témoignent les appellations d'origine contrôlée du crottin de Chavignol ou du Selles-sur-Cher.

b) Le Valençay-Levroux

Il s'agit d'un fromage en forme de pyramide tronquée, à base carrée, mesurant :

- 6 x 6 cm à la base inférieure
- 4 x 4 cm à la base supérieure
- 5 à 6 cm d'arête latérale

De couleur noirâtre, il pèse environ 280 g et contient 45 % de MG et 90 g de MS au minimum ; il est obtenu par coagulation lactique avec addition d'une faible quantité de présure. Il est recouvert de moisissures superficielles ; la pâte est molle et légèrement salée.

Sa fabrication nécessite 1,8 l de lait ; il se moule à partir d'un caillé préégoutté ; le salage se fait avec un mélange de sel et de charbon de bois ; la durée de l'affinage est au minimum de 15 j. à une température voisine de 16 à 18°C.

La production est essentiellement fermière; seules quelques laiteries en assurent la fabrication, de façon d'ailleurs artisanale.

c) Le Pouligny-Saint-Pierre

Le Pouligny Saint-Pierre bénéficie d'une appellation d'origine (Décret 24.5.76).

C'est un fromage de chèvre ayant la forme d'un tronc de pyramide, à base carrée, la base inférieure ayant au minimum 65 mm de côté et la base supérieure 25 mm de côté, obtenu par coagulation lactique du lait de chèvre avec addition d'une faible quantité de présure, à moisissures superficielles, à pâte molle légèrement salée, non cuite, contenant au minimum 45 g de MG pour 100 grammes de fromage après complète dessiccation et dont la teneur en MS ne doit pas être inférieure à 90 grammes par fromage.

De couleur bleu-vert, il pèse environ 300 grammes; il nécessite pour sa fabrication environ 2 litres de lait; l'affinage dure deux semaines au minimum, à une température voisine de 10 à 12°C.

Bénéficiant d'une appellation d'origine (D.24 mai 1976), sa zone de production est nettement définie ; la production de lait, la fabrication ainsi que l'affinage doivent être effectués dans l'aire géographique suivante :

- Canton de Belâbre : communes de Mauvières et St.Hilaire-sur-Bénaize
- Canton du Blanc : toutes les communes
- Canton de Mézières en Brenne : commune d'Azay-le Ferron
- Canton de Touinon-Saint-Martin : toutes les communes.

L'utilisation du caillé congelé est interdite pour la fabrication des fromages dits fermiers.

d) Le Selles-sur-Cher

Le Selles-sur-Cher est un fromage rond, de 8 à 9 cm de diamètre et de 2 à 3 cm d'épaisseur, pesant au minimum 200 g à l'état frais, obtenu par coagulation lactique du lait de chèvre avec addition d'une faible quantité de présure.

C'est un fromage à pâte molle, à moisissures superficielles, cendré au charbon de bois pulvérulent mélangé au sel et contenant au minimum 45 grammes de MG pour 100 g de fromage après complète dessiccation et 55 g de MS minimum par fromage.

L'affinage dure au minimum 10 jours, la fabrication nécessite environ 1,25 l de lait.

Protégée par une appellation d'origine (Décret du 21 avril 1975), l'aire de production est la suivante :

- dans le Loir-et-Cher : cantons de Contres
  Montrichard
  Saint-Aignan
  Mennetou-sur-Cher
  Romorantin-Lanthenay
  Selles-sur-Cher

- dans l'Indre : cantons de Valençay
  Issoudun-Nord
  Saint-Christophe en Bazelle
  Vatan

- dans le Cher : cantons de Graçay
  Lury-sur-Arnon

  communes de Massay
  Méry-sur-Cher
  Saint-Hilaire de Court
  Thénioux
  Vignoux-sur-Barangeon

2) Organisation de la production

Selon CHAUVEAU (6) plus de 6 millions de fromages de chèvre sont fabriqués en Indre-et-Loire ; si l'on adjoint à ce département les départements voisins du Loir-et-Cher et de l'Indre, près de 21 millions de fromages sont produits chaque année.

Le tableau n°VI donne un aperçu du nombre et de la répartition de chaque type de fromage en fonction du producteur.

Il existe trois sortes de producteurs de fromages de chèvre :

TABLEAU n°VI - Répartition départementale de la production fromagère (CHAUVEAU) (1974)

		Total	Crottin	Selles	Pyramides	Ste Maure	Chèvre	Autres
Indre	Affineurs	1 047 000	14 000	492 000	474 000	67 000	-	-
	Laiteries	13 720 000	6 600 000	420 000	1 160 000	3 040 000	-	2 500 000
	Eleveurs	71 500	-	-	71 000	400	100	-
TOTAL		14 838 500	6 614 000	912 000	1 705 000	3 107 400	100	2 500 000
Loir-et-Cher	A	642 860	-	444 000	190 000	-	-	-
	L	250 000	-	250 000	-	-	-	-
	E	185 000	57 000	128 000	-	-	-	-
TOTAL		1 077 760	57 000	822 000	190 000	-	-	-
Indre-et-Loir	A	-	-	-	-	-	-	-
	L	5 966 000	-	450 000	200 000	4 600 000	620 000	100 000
	E	220 500	-	37 000	-	168 000	3 000	12 000
TOTAL		6 184 500	-	487 000	200 000	4 768 000	623 000	112 000

- les éleveurs-producteurs
- les affineurs
- les laiteries

a) Les éleveurs-producteurs

60 % des propriétaires de chèvre d'Indre-et-Loire ne vendent pas de lait ; ils fabriquent eux-mêmes leurs fromages ; on les nomme indifféremment éleveurs-producteurs, éleveurs-indépendants, producteurs fermiers ; ils assurent la transformation de 40 % du lait de Touraine (4).

Ils commercialisent en général leur production eux-mêmes ; ils bénéficient auprès du consommateur d'une réputation de qualité et de naturel.

Selon BEAUDET, la production annuelle est d'environ 300 000 unités en Indre-et-Loire.

En règle générale, seule la forme régionale est commercialisée ;elle est cependant proposée à tous les stades d'affinage.

b) Les affineurs

Les affineurs sont des ramasseurs de fromage, collectant régulièrement le caillé moulé ou non, salé ou non, de moins de 4 jours ; ils sont chargés de le revendre après affinage.

Les affineurs étaient autrefois marchands de chevreaux, d'oeufs, de volailles, grossistes et intermédiaires ; ils se cantonnent de plus en plus à l'heure actuelle, dans le seul rôle d'affineur.

Leur importance est moindre en Touraine que dans les régions voisines du Sancerrois et du Berry ; seuls trois affineurs d'importance collectent en saison près de 18 000 fromages par semaine (4).

c) Les laiteries

Les laiteries transforment 60 % du lait départemental ; la technique de report par congélation du caillé leur permet d'assurer une production fromagère sur toute l'année et de répondre ainsi à une demande constante.

Les chiffres cités par CHAUVEAU dans le tableau n°VI permettent de conclure à la nette prééminence des coopératives laitières. Le Sainte-Maure est la forme la plus répandue (4 millions et demi), c'est aussi la mieux diffusée au niveau national ; viennent ensuite le Selles-sur-Cher et les pyramides (Valençay-Pouligny).

En pourcentage de production au niveau départemental, nous pouvons dresser le tableau suivant (n°VII) à partir de chiffres précités.

	Affineur	Eleveur	Total fermier	Laitier
Selles-sur-Cher	-	7,6 %	7,6 %	92,4 %
Pyramides	-			99 %
Sainte-Maure	-	3,7 %	3,7 %	96,3 %
Autres	-	2,04 %	2,04 %	98 %

Tableau n°VII - Pourcentage de production selon le fabricant et le type de fromage en Indre-et-Loire d'après les chiffres de CHAUVEAU (6).

Il nous semble cependant que ces chiffres représentent mal la réalité ; la production laitière nous semble en effet largement surévaluée.

III/ La commercialisation

1) Les circuits de distribution

Deux circuits de distribution permettent la commercialisation des fromages de chèvre :

- un circuit court : le producteur vend directement au consommateur, sur le lieu même de la production ou sur les marchés avoisinants. Il s'agit donc dans tous les cas d'un produit fermier réputé de qualité supérieure, justifiant par là-même un prix plus élevé.

- un circuit long, se caractérisant par la présence d'un ou plusieurs intermédiaires (grossiste, représentant, centrale d'achat, commissionnaire). Les fromages vendus selon ce circuit sont de deux types :

. Les fromages fermiers produits à la ferme mais affinés par l'affineur, vendus par celui-ci à un grossiste ou à un détaillant sous sa propre marque. L'étiquette identifiant le produit porte les mentions suivantes :

"fromage fermier" (à condition qu'il n'ait pas été utilisé de caillé congelé pour la fabrication).
le nom et l'adresse de l'affineur
le lieu de fabrication.

. Les fromages industriels vendus sous la marque de la coopérative par l'intermédiaire de centrales d'achat,

de grossistes ou directement par des détaillants.

2) La vente du Sainte-Maure fermier en Touraine

La commercialisation des produits fermiers porte, quel que soit l'acheteur, sur un produit nu, non emballé, fraîchement démoulé ou plus ou moins affiné. Le fromage est toujours vendu à la pièce, jamais au poids.

. La vente directe à la ferme est très répandue en Touraine, du fait du fort développement du tourisme rural. Certains producteurs ont ainsi pu exploiter une rente de situation (proximité d'un lieu touristique, route passante). On peut considérer à l'heure actuelle que tous les éleveurs-fromagers se livrent ainsi à la vente directe, pour certains de la totalité de leur production, pour d'autres d'une partie et de façon plus épisodique.

La vente directe à la ferme semble être le mode de valorisation du litre de lait le plus avantageux si l'on se réfère au tableau n°VIII suivant emprunté à AUCLERT (3).

TABLEAU n°VIII - Variation du prix de vente du Sainte-Maure en fonction du circuit de vente et de la longueur en 1976 (AUCLERT) (3)

Prix en francs / Longueur en cm	Vente à la ferme		Marché		Crémiers		Affineurs	
	v.e	$\bar{x}$	v.e	$\bar{x}$	v.e	$\bar{x}$	v.e	$\bar{x}$
14	5,80-6,50	6,10	6-6,20	6,10	5,60-6,50	6,20	-	4,50
15	-	6,50	-	-	5,50-6,30	5,93	-	-
16	6,00-6,50	6,35	-	6,50	5,50-7,50	6,26	5-5,50	5,10
17	5,80-6,30	5,95	6-6,20	6,10	-	6,16	4,80-5,50	5,10
18	5,00-7,50	5,82	-	6,00	5,30-7,50	5,45	4,80-6,80	5,70

. La vente sur les marchés : elle permet d'écouler en peu de temps une quantité appréciable de fromages auprès d'une clientèle fidèle. L'accroissement de la production en Mai-Juin, coïncidant avec l'apparition des fruits rouges dans le commerce, entraîne parfois une mévente.

. La vente à un affineur : elle est encore répandue en Indre-et-Loire ; elle s'explique pour certains producteurs par :

- l'impossibilité de détacher un personnel 3 à 4 fois par semaine sur un marché pour y effectuer la vente.
- l'isolement de certaines exploitations interdisant la vente directe
- l'absence de hâloir
- le caractère séduisant et sécurisant d'une vente toujours assurée.

Les contrats entre affineurs et éleveurs sont toujours verbaux, les prix sont paraît-il constants, même en période de "pléthore".

Le seul désavantage de ce type de commercialisation est évidemment le faible prix de vente (cf.le tableau n°VIII).

. La vente aux crémiers, aux restaurateurs

Ce type de vente est toujours associé à la vente directe ou sur marché, il est le fait de producteurs soucieux de diversifier au maximum leur commercialisation.

3) La commercialisation du fromage laitier

Le fromage laitier est commercialisé selon trois réseaux parallèles :

- directement par les détaillants locaux (ou parisiens pour certaines laiteries)
- par l'intermédiaire de grossistes
- par l'intermédiaire de centrales d'achat.

L'étude de CHAUVEAU portant sur 20 laiteries de la Région Centre permet de démontrer la prédominance du circuit court et régional dans la commercialisation du fromage de chèvre industriel.

Réseau de commercialisation / Type de fromage	grossiste	Centrale d'achat	Détaillants-consommateurs
Selles-sur-Cher	38,5 %	18,5 %	43 %
Pyramides	39 %	21 %	40 %
Sainte-Maure	26 %	34 %	40 %

Tableau n°IX - Pourcentages de production selon le circuit de distribution et le type de fromage selon CHAUVEAU, 1974 (6)

La diffusion finale des produits est difficile à appréhender en dehors de la Région Centre, en raison de l'absence de chiffres. Schématiquement, on peut cependant admettre que 60 % de la production est commercialisée dans la région et que 40 % est acheminée par l'intermédiaire de grossistes (Rungis) sur l'ensemble du territoire national et des pays membres de la C.E.E., en particulier la Belgique.

Conclusion

L'évolution de l'élevage caprin vers un mode intensif, l'augmentation de l'effectif moyen des troupeaux, la répartition de ces troupeaux au sein d'exploitations moyennes et grandes dément le vieil adage selon lequel "la chèvre est la vache du pauvre".

L'élevage caprin et la production du lait et de fromages ne peuvent donc plus être considérés en Touraine comme une activité agricole mineure.

Le prix du litre de lait de chèvre, deux fois plus élevé que celui de vache, les importantes fluctuations saisonnières de la production peuvent inciter, vu la demande constante en fromages de chèvre, à la fraude par adjonction de lait de vache au lait de chèvre.

Ces simples considérations économiques justifient l'étude des méthodes de détection des adultérations que nous présentons.

DEUXIEME PARTIE

LES METHODES DE DETECTION DES ADULTERATIONS DES LAITS DE CHEVRE

L'identification d'un lait d'une espèce donnée au sein d'un mélange repose sur la mise en évidence d'un caractère qui lui soit propre.

L'étude des compositions des laits de vache et de chèvre permet de souligner les différences dont tirent parti les diverses techniques de recherche des adultérations.

A/ Compositions comparées des laits de vache et de chèvre

Le lait de chèvre est globalement moins riche en matières azotées et en lactose que celui de vache.

Les laits des chèvres de France sont plus pauvres que ceux analysés dans d'autres pays, tels que la Grande-Bretagne, sans doute en raison de différences raciales, mais aussi d'une exploitation plus intensive dans notre pays (18).

Cette constatation permettrait d'expliquer les

TABLEAU n°X - Composition comparée des laits de vache et de chèvre d'après

(1) : JARRIGE Alimentation des Ruminants - I.N.R.A. p.241

(2) : VEYSSEIRE (R) - Techniques latières 2e ed.

		Vache (lait à 4% MG)	Pie Noire	Normande	Pie rouge	Chèvre (1)	Chèvre (2)
g/kg	Eau	871				886	
	Matière sèche	120				114	125 - 145
	Lactose	48				43	40 - 50
	Matière grasse	40	37,4	40,8	36,6	33	35 - 50
	Matière azotée	33,5	32,0	32,0	33,1	29	35 - 39
	Cendres	7,5				8	7 - 9
g/l	Ca	1,25	1,21	1,29	1,19	1,3	
	P	0,95	0,90	0,94	0,89	0,9	
	Mg	0,12	0,11	0,11	0,11	0,12	
	K	1,50					
	Na	0,50					
	Cl	1,1					

chiffres plus élevés publiés par LARSON :

Composition du lait de chèvre selon LARSON d'après 2662 échantillons		
	MS :	132
	lactose:	41
	MG :	45
	MA :	29
	cendres:	8

1) Les matières grasses

. La composition comparée des glycérides du lait de vache et du lait de chèvre (tableau n°XI) met en évidence la plus grande richesse de la MG du lait de chèvre en Acides gras Volatils Insolubles (acides caprylique, caprique, laurique et myristique) et la relative pauvreté en Acides gras Insaturés (surtout en acide oléique).

Les Acides Gras à courte chaîne insolubles "spécifiques" du lait des petits ruminants sont à l'origine des caractères organoleptiques particuliers des fromages de chèvre ; leur synthèse par la mamelle s'effectue à partir de l'acétate produit par les fermentations digestives et du β hydroxybutyrate produit par le métabolisme de la paroi ruménale.

Les acides gras à longue chaîne (C_{18} et plus) proviennent de l'alimentation et de la mobilisation des réserves adipeuses.

. Les phospholipides, qui ne représentent qu'à peine 2 % de la MG totale, constituent la membrane lipoprotéique des globules gras. Nous disposons de peu d'informations spécifiques sur ceux du lait de chèvre.

Tableau XI - Nature et composition des acides gras des glycérides de la matière grasse du lait de chèvre et du lait de vache

d'après GAILLARD et HUNIN (16)

Catégories	Acides gras	Proportion en %	
		Chèvre	Vache
AG saturés			
a) volatiles solubles		5	6
	butyrique C_4	3	4
	caproïque C_6	2	2
b) volatiles insolubles		19	5
	caprylique C_8	3	1
	caprique C_{10}	10	2
	laurique C_{12}	6	2
c) fixes		47,5	42,5
	myristique C_{14}	12	8
	palmitique C_{16}	28	26
	stéarique C_{18}	7	13
	arachidique C_{20}	0,5	0,5
AG insaturés			
	décénoïque $C_{10},1\ \Delta$	4	3
	oléique $C_{18},1\ \Delta$	19	32
	linoléique $C_{18},2\ \Delta$	4	4
	Acides en C_{20} et C_{22}	1	1

Chez la chèvre, comme chez la vache, le niveau lipidique de la ration influe sur la production de MG par la mamelle ; d'autre part, la variation de la sécrétion lipidique s'accompagne de modifications dans la composition en A.G. du lait (11). Cependant le pourcentage des acides caproïques, capryliques et capriques reste stable quel que soit le régime (11).

L'analyse de la composition en A.G. volatils d'un lait quelconque peut donc permettre de l'identifier ; diverses méthodes ont été proposées, nous les étudierons dans un chapitre suivant.

2) Les matières azotées (29)

Les proportions respectives des différentes protéines du lait sont indépendantes du régime alimentaire ; leur concentration totale varie de façon limitée au cours de la lactation et parallèlement à la variation du taux de MG(18).

Elles représentent le facteur le plus important pour le rendement fromager (poids de fromage obtenu) puisqu' elles constituent, après coagulation, le caillé, le lait de chèvre en contient environ 30 g/kg réparties approximativement de la façon suivante :

. Caséines	80 %	
. Protéines solubles :		
- immunoglobulines	2 %	20 %
- lactalbumine - lactoglobuline	15 %	
- protéines peptones	2 %	
- autres	1 %	

a) Les substances azotées non protéiques se répartissent en :

urée	: 65 %	ammoniac	: 0,8 %
acides aminés libres	: 17 %	acide urique	: 0,6 %
créatinine	: 1,3 %	constituants indéterminés	: 1,8 %
créatine	: 4 %		

La teneur en urée est voisine de celle du plasma sanguin et augmente avec le taux d'azote de la ration. Le pourcentage de ces substances est plus important dans le lait de chèvre que dans celui de vache.

b) Les caséines

Les caséines sont un groupe hétérogène de phosphoprotéines de poids moléculaire élevé, élaborées par la glande mammaire et précipitables à pH 4,6 et à 20°C ; elles se trouvent dans le lait sous forme de micelles. On distingue des caséines à point isoélectrique bas et des caséines à point isoélectrique élevé. Parmi les premières on trouve :

- la caséine α : protéine phosphorée de 200 AA contenant 8 atomes de P fixés sur certains acides-alcools de la molécule
- la caséine β : contenant 5 atomes de P

Ces deux caséines sont agglutinées par les ions Ca^{++}

- la caséine K : molécule soufrée hydrophile et insensible au Ca^{++}.

Ces trois fractions ont été reconnues par électrophorèse dans le lait de chèvre et ont été ainsi désignées par analogie avec les caséines du lait de vache.

La caséine α_s du lait de chèvre a cependant une mobilité moindre que son homologue bovine ; les vitesses de migration des autres caséines sont comparables.

Cette mobilité électrophorétique différente des caséines α est le support de la méthode électrophorétique de détection des adultérations, qui depuis 1971, est la seule méthode officielle (A.M. 24 mars 1972).

c) Les protéines solubles

Elles forment une fraction complexe non dialysable et précipitable par l'acide trichloracétique à 12 %.

On distingue :

- Les protéines-peptones : de 10 à 112 mg/100 ml (en moyenne 56 mg/100 ml) ce qui est nettement inférieur au lait de vache (220 mg/100 ml).

- La β lactoglobuline de chèvre, qui diffère de celle du lait de vache par un point isoélectrique légèrement plus élevé (pH_i: 5,9) et par conséquent par une mobilité électrophorétique moindre (Rx: 0,44-0,37) (2) (28) (Rx vache : 0,76)

- Les albumines : il n'existe pas de différence entre l'α lactalbumine de chèvre et celle de vache.

- Les immunoglobulines.

Caséines et protéines solubles, susceptibles de devenir antigéniques et donc de provoquer la formation d'anticorps, sont à la base des réactions immunologiques de détection des fraudes. La possession d'un antisérum spécifique d'un élément protéique donné d'un des constituants présumés d'un mélange permet d'affirmer ou de nier la présence de celui-ci au sein du mélange.

Nous verrons dans le chapitre suivant l'étude détaillée de ces réactions.

B/ Les méthodes immunologiques de détection des adultérations des laits

La possibilité de différencier les protéines du lait de différentes espèces par des méthodes immunologiques a été suggérée dès 1899 par BORDET, qui montra que des injections intrapéritonéales de lait au lapin provoquaient l'apparition d'Anticorps précipitant la caséine in vitro (12).

BAUER, en 1908, appliqua le premier cette méthode immunologique pour la détection du lait de vache dans celui de femme ; par une technique de fixation du complément il put mettre en évidence jusqu'à 0,1 % de contaminant (24).

Mais c'est seulement en 1952 que HADLAND et SOLBERG publièrent en Norvège une technique applicable au mélange lait de vache - lait de chèvre (12).

Depuis, de nombreuses recherches ont été effectuées afin de pallier la difficulté majeure de cette méthode : la très forte réactivité croisée des protéines du lait d'espèces différentes, dues à la présence de déterminants antigéniques communs.

Ces recherches ont porté sur trois points principaux :

- le choix de l'antigène
- le choix de l'animal producteur de l'antisérum
- le choix de la technique de mesure de la réaction Ag-Ac.

1) Choix de l'antigène

- le lait entier (technique SERGENT-HADLAND)

Le sérum anti-lait entier de vache est obtenu sur lapin et absorbé par du lait de chèvre. La réaction de mise en évidence du complexe Ag-Ac est une floculation entre le sérum anti-lait et le lait de vache éventuellement présent dans le lait de chèvre.

C'est une réaction simple mais peu précise, non quantitative et non applicable aux fromages ; elle n'est plus utilisée.

- le sérum total de vache (méthode DURAND, 1975)

L'antigène, dans cette technique, est le sérum total de vache ; l'antisérum est obtenu sur lapin et absorbé par du sérum caprin.

L'antisérum révèle donc les protéines sériques de vache contenues dans le lait de vache (immunoglobulines -

albumine) éventuellement présent dans l'échantillon.

La technique utilisée par DURAND est celle de la double immunodiffusion en gélose (technique OUCHTERLONY). La détection de 5 % de fraude est possible, l'application à l'analyse des fromages est aisée.

- Les caséines

Les caséines présentent peu d'intérêt en raison de leur modification de structure au cours de la fabrication des fromages.

- Les β lactoglobulines et l'α lactalbumine

Elles sont peu immunogènes et, après absorption, les anti-sérums obtenus sont trop faibles, aussi ont-elles été éliminées.

- Les immunoglobulines

Les immunoglobulines sont de puissants immunogènes et permettent d'obtenir des anti-sérums puissants et spécifiques selon l'animal producteur.

2) Choix de l'animal producteur de l'anti-sérum

Longtemps l'animal utilisé pour la production des anti-sérums fut le lapin, ce qui présentait deux inconvénients :

- La production d'un anti-sérum peu spécifique ; le lapin faisant peu de différences entre les protéines de vache et celles de chèvre, vu leur grande analogie antigénique (sites antigéniques communs).

- La nécessité d'absorber l'anti-sérum par des protéines de chèvre (sériques ou lactées) pour le rendre spécifique des protéines bovines.

L'utilisation de la chèvre comme producteur d'antisérum élimine ces désavantages puisque, selon le principe d'Ehrlich : l'organisme n'élabore pas d'Ac contre ses propres antigènes.

L'injection d'immunoglobulines de vache à une chèvre ne permet donc la synthèse que d'Ac dirigés contre les sites antigéniques de vache et non contre les sites communs.

L'antisérum obtenu est alors spécifique des immunoglobulines bovines et ne nécessite aucune absorption.

3) Choix de la technique de la mesure de la réaction Ag-Ac

Les techniques que nous exposons ci-dessous s'appliquent au lait cru ou chauffé (maximum 75°C pendant 30 secondes) de vache et de chèvre, frais ou conservé par congélation ou par addition de bichromate de potassium ou de chlorure mercurique, ainsi qu'aux fromages frais ou affinés, même en état de protéolyse très avancée.

a) Les méthodes semi-quantitatives

Elles n'ont plus grande utilité, elles permettent seulement une appréciation du niveau de fraudes. Elles sont de deux types :

- une réaction d'agglutination (13) (tombée en désuétude) - 1 goutte de lait + 1 goutte de sérum anti-lait sont déposées sur une lame ; après mélange, il se forme en cas de réaction positive des agglutinats.

- une réaction d'immuno précipitation en milieu gélosé (12).

L'immuno précipitation en milieu gélosé nécessite pour sa réalisation (1975) (méthode DURAND) :

- une gélose dont la formule est la suivante :

- Agarose BDH	1 g
- Eau distillée	45 ml
- Solution aqueuse de bleu de brométhymol	5 ml
- Tampon Véronal pH: 8,3	50 ml
- Merthiolate	1/5000

- un emporte-pièce comportant un tube central et 5 tubes périphériques servant à pratiquer dans la gélose solidifiée 6 réservoirs identiques.

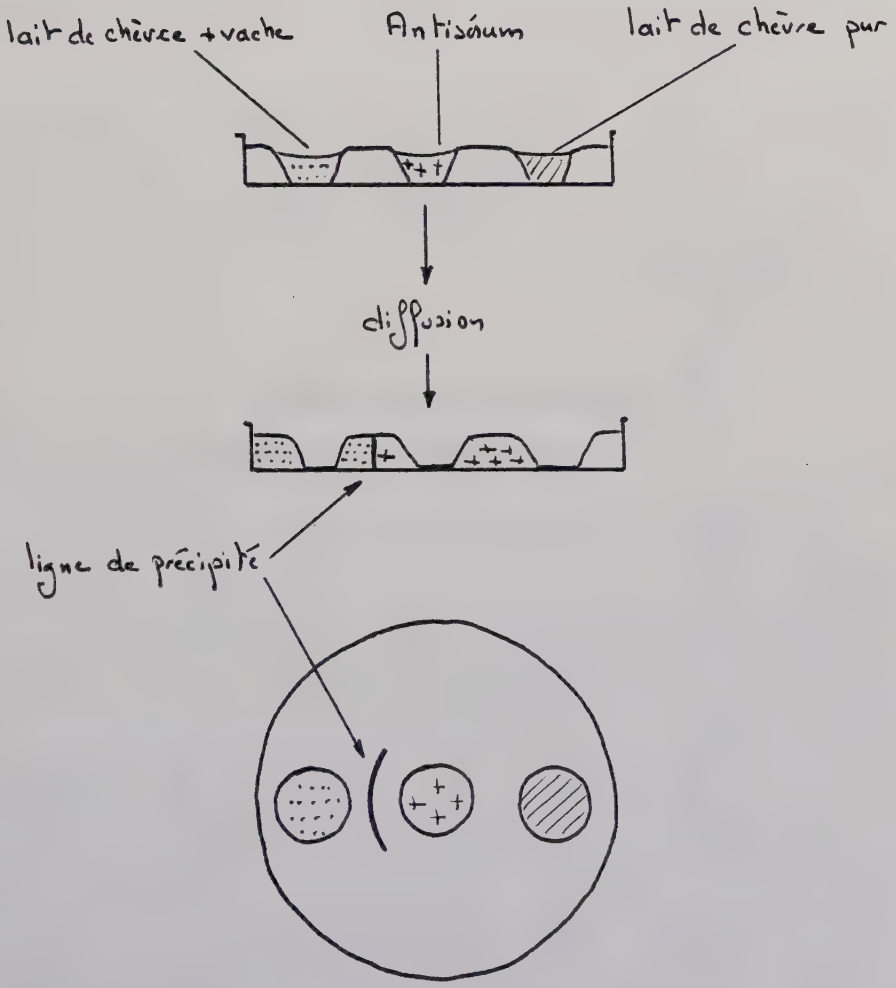
- 0,1 ml d'antisérum déposé dans le réservoir central
- 0,1 ml d'échantillon à analyser par réservoir périphérique.

La réaction positive se traduit par l'apparition, en 24 heures, d'une ou plusieurs lignes de précipitation nettes à mi-distance entre le lait fraudé et le sérum réactif (cf.le schéma n°1).

La qualité du lait analysé a peu d'importance ; l'utilisation de laits bichromatés, écrémés ou entiers n'influe pas sur la valeur des résultats ; il est cependant nécessaire de prélever le lait sous la couche de crème, celle-ci diffusant mal au sein de la gélose.

Cette méthode permet de déceler jusqu'à 2,5 % de lait de vache, voire 1 % si l'on recharge les godets, mais l'appréciation du niveau de fraude est délicate voire impossi-

Schéma n°1 - Schéma de l'immuno précipitation en gélose
(Technique OUCHTERLONY)
- Méthode DURAND, 1975
(emprunté à LEVIEUX)



ble ; elle ne repose que sur l'intensité des lignes de précipitation.

La technique est applicable aux fromages ; il suffit de broyer 1 gramme de fromage avec 2 ml d'eau distillée jusqu'à obtention d'un liquide homogène dont 0,1 ml sera déposé dans un réservoir périphérique, face à l'antisérum.

Simple, et de faible coût, cette méthode permet un dépistage rapide de la fraude sans pouvoir la quantifier; on doit aujourd'hui lui préférer l'immuno diffusion radiale type Mancini, de manipulation aussi aisée et de principe voisin dont les résultats sont quantifiables,que nous examinons plus loin.

b) Les méthodes quantitatives

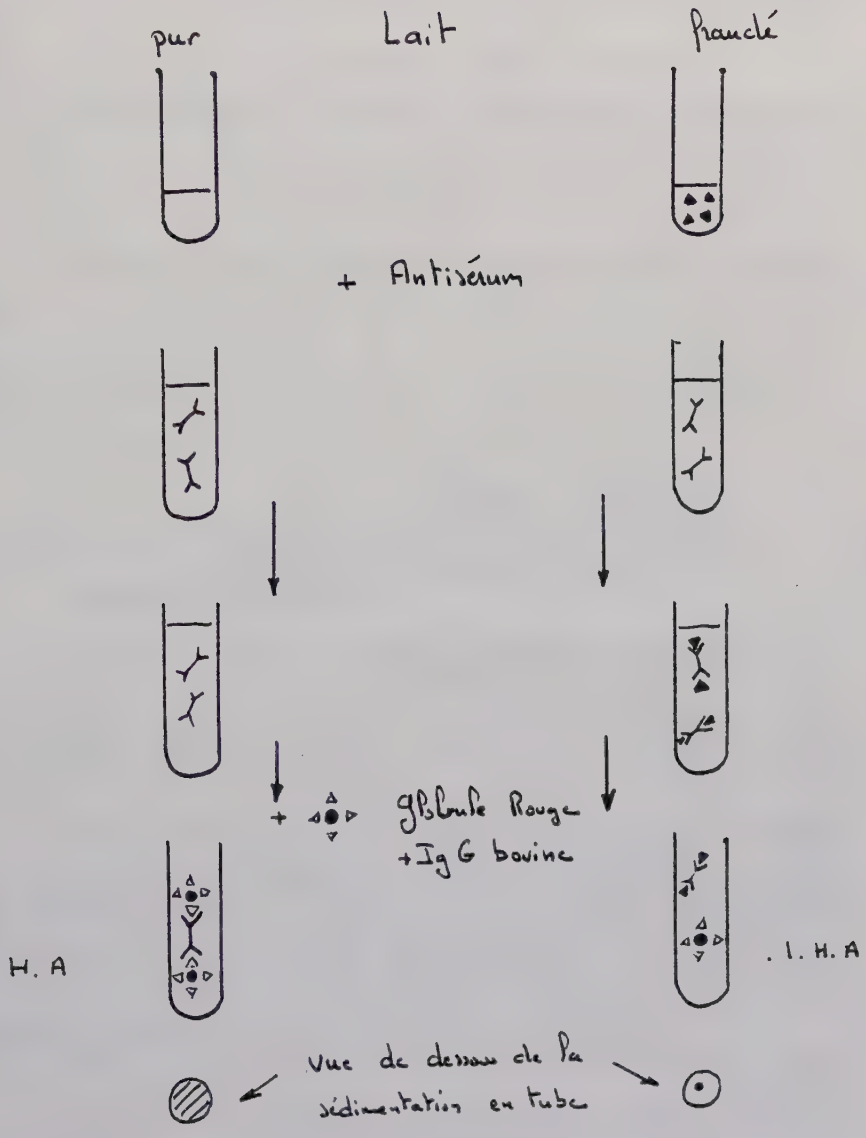
) l'inhibition de l'hémagglutination(I.H.A)

L'immunisation des chèvres avec une protéine purifiée obtenue à partir du lait de vache (Ig G_1) permet d'obtenir, nous l'avons vu, un antisérum qui ne réagit qu'avec les déterminants antigéniques propres à la vache portés par cette protéine. Cet antisérum peut donc agglutiner des globules rouges de poule sensibilisés par l'Ig G.

Le principe de l'I.H.A. (schéma n°2) est celui-ci :

L'antigène recherché (Ig G de vache) est fixé sur des globules rouges qui sont alors dits "sensibilisés" ; le mélange "lait suspect-antisérum" inhibe, après incubation, l'hémagglutination des globules rouges si le lait suspect est un lait fraudé, et n'inhibe pas cette hémagglutination si le lait suspect est un pur lait de chèvre.

Schéma n°2 - Principe de l'inhibition de l'hémagglutination
(emprunté à LEVIEUX) (24)



Par l'analyse de dilutions croissantes du lait à examiner, on détermine le pourcentage de lait de vache éventuellement ajouté au lait de chèvre.

Le mode opératoire, codifé pour l'analyse des laits et fromages de chèvre par l'annexe à l'arrêté ministériel du 23 mars 1978 est le suivant (J.O. du 1er juin 1978).

Après préparation de l'échantillon et d'une gamme étalon, on procède à des dilutions d'ordre 2 sur 0,025 ml de diluant dans les cupules d'une micro-plaque.

. On ajoute alors l'antisérum sous un volume de 25 µl
. On agite et on laisse incuber 10 minutes à la température ambiante
. On ajoute alors les globules rouges sensibilisés et on laisse sédimenter 30 minutes.

- lecture des résultats

Les globules rouges "sensibilisés" sédimentent en culot (inhibition de l'hémagglutination) lorsque l'échantillon suspect neutralise totalement l'antisérum (voir schéma n°2) ; la dernière dilution de l'échantillon qui donne une inhibition de l'hémagglutination permet donc de déterminer l'importance de la fraude, la concentration de l'antisérum étant préalablement définie pour obtenir une I.H.A. à partir d'une fraude de 1°/₀₀. Il est cependant plus facile de comparer les résultats du lait analysé à une gamme de laits fraudés témoins incubée dans les mêmes conditions.

Les résultats obtenus par rapport à la gamme-étalon doivent être multipliés, lorsqu'il s 'agit de fromages par un facteur de correction tenant compte de la matière sèche.

Cette technique permet de déceler, en ce qui concerne le lait une adjonction de 1°/₀₀ de lait de vache, et en ce qui concerne le fromage une "fraude" de 4°/₀₀.

Il s'agit donc d'une méthode très sensible mais dont la précision dépend des dilutions effectuées ; on lui préfère généralement une méthode moins sensible mais de réalisation plus simple : l'immuno diffusion radiale type Mancini que nous avons utilisée dans notre étude.

) L'immuno diffusion radiale (I.D.R.)

Principe de Mancini

Dans une gélose en légère surfusion, on incorpore une dilution convenable d'un immun-sérum monospécifique et on coule en boîte de Petri, de façon à obtenir un gel d'épaisseur homogène et de concentration uniforme en Ac.

Un volume déterminé de solution d'antigène est introduit dans une cupule cylindrique creusée dans la gélose. Par diffusion, il se crée un gradient décroissant de concentration en Ag. Quand la concentration en Ag est équivalente à celle de l'anticorps, il se forme un cercle de précipitation.

Le diamètre externe du cerle est, selon MANCINI, proportionnel à la racine carrée de la concentration en Ag. Sur une courbe étalon réalisée avec des mélanges lait de

vache - lait de chèvre connus, on détermine la concentration en lait de vache de l'échantillon suspect par simple report du diamètre mesuré (cf.courbe n°3) (24).

Mode opératoire officiel (J.O. du 1er juin 1978)

Cette méthode étant celle que nous avons utilisée au laboratoire départemental des Services Vétérinaires de Tours pour notre enquête, nous décrirons un peu plus longuement que nous ne l'avons fait pour les autres techniques, les manipulations qu'elle requiert.

Nous avons utilisé des boîtes de Pétri prêtes à l'emploi, dans lesquelles avaient été coulées des géloses contenant un antisérum spécifique du lait de vache.

1) préparation de l'échantillon

. le lait : à 10 ml de lait est ajouté 1 goutte de présure de force 1/1000.

On incube à 37°C cinq à dix minutes, jusqu'à coagulation des caséines.
On centrifuge à 3000 tours/minute pendant 10 à 15 minutes.
On obtient trois phases :

- . une couche de MG
- . une couche intermédiaire opalescente, qui contient le lactosérum
- . un culot de caséines.

On prélève 0,5 à 1 ml de lactosérum en évitant d'entraîner la MG. L'échantillon de lactosérum se conserve à +4°C pour une courte durée et peut être congelé en vue d'un stockage plus long.

. Les fromages

On pèse 10 grammes de fromage, on y ajoute 10 ml d'eau acidifiée à pH 4 (1 goutte d'acide acétique dans 20 ml d'eau distillée) et 20 ml de chloroforme.

On homogénéise avec un broyeur.
On centrifuge pendant 10 minutes à 3000 tours/min.
On récupère la phase supérieure limpide.

2) Préparation de la gamme étalon

Une gamme étalon est constituée par du lait de chèvre contenant 1, 2, 5, 10, 25, 50 % de lait de vache.

3) Immunodiffusion

A l'aide d'une micropipette, 10 µl de l'échantillon à analyser et de la gamme étalon sont déposés dans les cupules. Nous laissons diffuser 24 heures à 37°C dans une chambre humide (pot de confiture dont le fond est garni de coton saturé d'eau).

4) Traitement des plaques

On met ensuite les boîtes en lavage sous agitation constante dans une solution de Na Cl à 9°/₀₀ pendant 8 à 12 heures (1 nuit). On remplit ensuite les boîtes d'eau glycérinée à 5 % pendant 10 minutes. Les plaques étant toujours immergées, on recouvre la gélose de papier filtre, on égoutte en maintenant le papier filtre au contact de la gélose, en vérifiant l'absence de bulles d'air qui modifieraient la coloration de la gélose.

On laisse sécher 24 heures ou on accélère l 'évaporation à l'aide d'un sèche-cheveux maintenu à une distance

ne permettant pas de dépasser 45 à 50°C au niveau de la boîte. Le séchage est complet en 45 à 60 minutes (solution que nous avons choisie).

Quand les plaques sont parfaitement sèches, on les recouvre d'eau distillée pendant quelques minutes pour permettre au papier filtre de se décoller progressivement. On le retire à l'aide d'une pince et on vide précautionnement l'eau pour éviter que la gélose ne se décolle de la boîte.

La coloration s'effectue au Noir Amido à 1°/₀₀ dans l'acide acétique à 2 %, pendant 15 minutes.

On décolore en rinçant avec 3 à 4 bains d'acide acétique à 2 % de 1 à 2 minutes chacun, de façon à bien décolorer les zones sans précipité ; on complète le rinçage par l'adjonction d'acide à 2 % contenant 5 % de glycérine pendant 5 minutes. On vide et on sèche.

5) Lecture

On observe autour des cupules des anneaux de précipitation bleus contrastant avec le fond de la boîte. Le diamètre du cercle de précipitation est proportionnel à la quantité de lait de vache contenue dans la cupule correspondante, selon la formule :

$$d = k \sqrt{(c)}$$

La mesure des diamètres de précipitation s'effectue avec un double décimètre gradué au 1/2 millimètre ou mieux à l'aide d'un rétroprojecteur.

Sur un papier millimétré sont portés en ordonnées les diamètres des précipités obtenus avec la gamme-étalon et en abcisses les racines carrés des concentrations des laits de vache. On obtient alors une courbe de référence sur laquelle sont reportés les diamètres trouvés pour chaque échantillon (courbe n°3).

Remarques et limites de la méthode

- Il existe un facteur de correction pour le lait entier, qui migre moins vite que le lactosérum qui est utilisé pour la gamme-étalon.

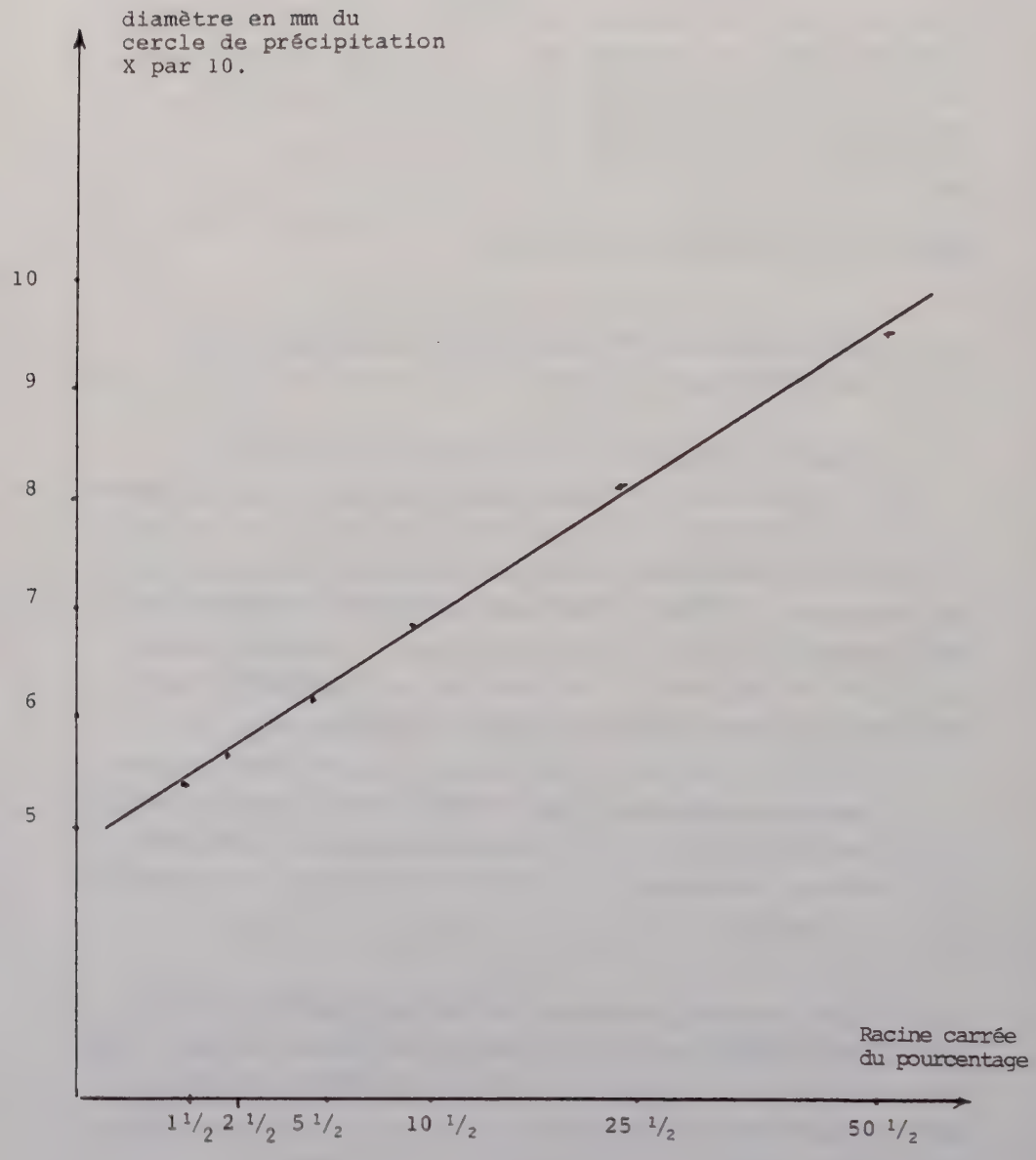
% de la quantité de lait de vache réel =
1,10 x % de la quantité de lait de vache trouvé

- Il existe un facteur de correction pour l'analyse des fromages : il doit être tenu compte de l'extrait sec des fromages utilisés. Comparativement à la gamme-étalon, il faudra multiplier le résultat par un facteur de correction variable avec l'extrait sec du fromage :

extrait sec en %	30	40	50	60	70
facteur de correction x le résultat par	3	2,5	2	1,5	1

Cette technique permet de déceler dans le lait de chèvre une adjonction de 1 % de lait de vache, et dans les fromages une adjonction de 2 %. Ces proportions peuvent être respectivement ramenées à 0,5 % et 1 % en rechargeant les cupules après 20 à 30 minutes de diffusion.

Courbe n° 3 - Gamme étalon."lactosérum"



C/ Les méthodes physico-chimiques

1) Analyse des Matières Grasses

Les méthodes de recherche du lait de vache dans le lait et le fromage de chèvre étaient jusqu'à ces quinze dernières années basées sur la différence de composition de la matière grasse du lait de vache et du lait de chèvre. Elles sont depuis tombées en désuétude, d'une part en raison de leur complexité et de la variabilité de la composition des MG lactées, et d'autre part en raison de leur incapacité de déceler l'adjonction de lait de vache écrémé.

Nous mentionnerons cependant pour mémoire :

- La détermination par LOPEZ de l'indice caprylique (1934).

L'indice caprylique s'obtient en multipliant le poids en milligrammes du caprylate de cuivre, résultant de la saponification de la matière grasse du lait, par un facteur variable avec le poids de graisse prélevée.

pour 1 gramme de MG saponifiée le facteur est égal à 0, 860
pour 1,16 gramme de MG saponifié il est de 0,750

	lait de vache	lait de chèvre	lait 50% vache 50% chèvre
valeurs de l'indice caprylique selon Lopez	3,2	17,7	10,5

- La méthode de CHOLLET et CAMUS (1937), qui utilise la différence dans la proportion relative des acides volatils solubles et insolubles des MG des laits de vache et de chèvre, les acides capryliques et capriques étant en plus grande quantité dans les MG du lait de chèvre (cf.tableau n°XII).

L'établissement du rapport

$$R = \frac{\text{acides volatils insolubles}}{\text{acides volatils solubles}} \times 100$$

permet de matérialiser les différences de composition ; ce rapport varie de 8 à 15 pour le beurre de vache et de 36,5 à 43,1 pour le beurre de chèvre.

L'extraction de la MG par agitation dans l'éther sulfurique d'un mélange d'HCl et fromage permet d'étendre cette méthode à l'analyse des fromages.

Le fromage est chauffé doucement jusqu'à dissolution des caséines dans une quantité d'acide chlorhydrique de densité 1,125 suffisante pour le recouvrir ; la matière grasse est extraite de ce liquide par agitation dans l'éther sulfurique, repos et décantation.

Ces auteurs publièrent les chiffres suivants, obtenus sur des fromages dont la fabrication avait été suivie.

	Pur chèvre		25% lait de vache		50% lait de vache	
	obtenu	calculé	obtenu	calculé	obtenu	calculé
AG solubles	19,8	19,7	21,3	21,2	22,7	22,7
AG volatils insolubles	7,3	7,5	5,8	6,4	4,9	5,2
$R=\frac{ins}{vol}x100$	36,6	38,1	27,2	30,2	31,6	22,9

Tableau n°XII (8)

Cependant, une année après avoir exposé leur méthode, ils nuancent leurs écrits et invitent à rester prudent dans l'interprétation des résultats, le taux de MG variant en fonction de la lactation et le rapport insoluble/soluble augmentant selon eux régulièrement du début à la fin de la lactation (CHOLLET - CAMUS 1938) (9).

- L'application de la chromatographie en phase gazeuse permet de calculer les rapports des acides gras en C_{12} , C_{14} et C_{16} sur C_{10}, qui sont différents dans la graisse du lait de chèvre et du lait de vache.

Tableau n°XIII - exemple : Valeurs moyennes du rapport C_{12}/C_{10} dans divers mélanges de lait de vache et de chèvre (KUZDAL)

	Lait de chèvre pur	25% lait de vache	50% lait de vache	75% lait de vache	lait de vache
Rapport $\frac{C_{12}}{C_{10}}$	0,5	0,62	0,75	0,87	1

- Le dosage du β carotène

Le β carotène est un pigment liposoluble spécifique du lait de vache (150 à 300 µg/litre de lait, 500 à 1000 µg/100 g de MG); le lait de chèvre en est totalement dépourvu. Sa mise en évidence dans un échantillon de lait signe donc de façon formelle l'adjonction de lait de vache.

. principe de la méthode (KUZDAL)

La liaison du β carotène avec la partie insaponifiable de la Matière Grasse est rompue par une attaque alcaline (saponification). L'insaponifiable est extrait par l'éther de pétrole et le β carotène est isolé par chromatographie sur colonne d'alumine. Il est ensuite dosé par colorimétrie. La comparaison de l'échantillon avec une gamme-étalon permet de situer l'importance de la fraude.

. inconvénients de cette technique

- Le colostrum de chèvre contient du β carotène.
- Le taux du β carotène dans le lait de vache varie en fonction du stade de la lactation, de l'alimentation, de la race.

- La recherche de la xanthine-oxydase (25)

Ce test est basé sur la mise en évidence par colorimétrie d'une enzyme, la xanthine-oxydase, dont la concentration est toujours plus élevée dans le lait de vache que dans celui de chèvre.

. principe

L'oxydation de la xanthine en acide urique, en présence de nitrobleu de tétrazolium, entraîne une réduction irréversible de ce dernier en formazan coloré en violet.

100 µ l de lactosérum de l'échantillon suspect
+
1 goutte de réactif de composition suivante :

{ 60 mg de Nitrobleu de Tétrazolium
  3 mg de phénerzine méthosulfate
  100 ml d'eau distillée

sont placés dans une cupule, dans une étuve à 37°C pendant 15 minutes.

Une réaction positive, qui se traduit par une coloration violette, indique la présence de lait de vache dans l'échantillon.

. inconvénients de cette technique

- La méthode n'est pas quantitative.

- La xanthine-oxydase est détruite par la pasteurisation et par la maturation des fromages.

2) Electrophorèse des caséines

Le diagramme électrophorétique des laits (caséines et protéines solubles) est caractéristique de chaque espèce animale.

La seule méthode officielle de détection des fraudes du lait de chèvre est, depuis le 21 mars 1972, l'électrophorèse des caséines dont le principe est le suivant:

La caséine α_s du lait de vache présente une plus grande mobilité électrophorétique que la caséine α_s du lait de chèvre ; chaque plaque d'électrophorèse effectuée en gel de polyacrylamide doit comporter un témoin de caséine de lait de chèvre et un témoin de caséine de lait de vache.

La mise en évidence, dans l'échantillon examiné, d'une bande migrant au niveau de la caséine α du lait de vache est significative de la présence de lait de vache.

L'évaluation quantitative s'effectue par photométrie.

La technique s'applique au lait cru, au lait ayant subi un traitement thermique (pasteurisation, stérilisation, déshydratation partielle ou totale) ainsi qu'aux fromages frais ou affinés, sous réserve que les fromages affinés ne présentent pas un état de protéolyse trop avancé ; elle permet de détecter une addition frauduleuse jus-

qu'à une limite inférieure de 2 %.

Nous étant limités dans notre étude, à l'électrophorèse des protéines solubles et non des caséines, sur colonne de gel et non sur plaques, nous ne mentionnerons que dans ses grandes lignes le mode opératoire de cette technique.

- préparation de l'échantillon :
  . centrifugation d'un mélange [lait (2ml), H_2O.(30 ml)]
  . élimination de la graisse surnageante
  . dissolution du culot par une solution d'urée à 420 g/l
  . élimination des dernières traces de MG par addition de 20 ml de tétrachlorure de carbone et centrifugation.

- préparation des plaques de gel :
  . couler la solution d'acrylamide (3 heures de polymérisation)
  . imprégner des rectangles de papier Whatmann 3 MM avec les solutions de caséine à étudier
  . insérer chaque languette de papier imbibée dans une fente pratiquée à une extrémité de la plaque de gel (voir schéma n°3).

- électrophorèse : en général, 8 heures avec un courant de 5 mA par plaque.

- Traitement des plaques de gel :
  . coloration au noir Amido pendant 2 minutes
  . décoloration à l'acide acétique à 10 % pendant 36 à 48 heures.

- Séchage des plaques et lecture au photomètre.

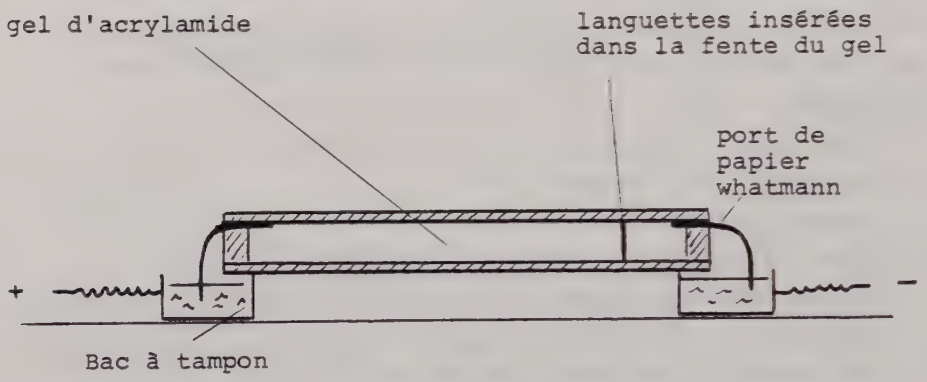


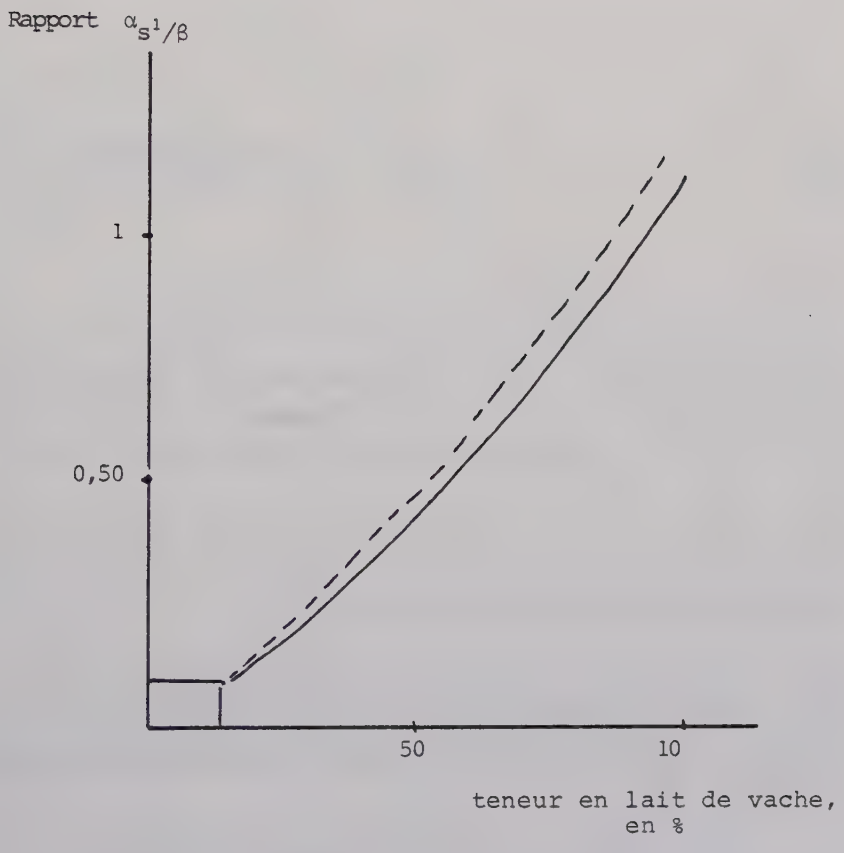
Schéma n°3 - Dispositif d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide

- Expression des résultats :

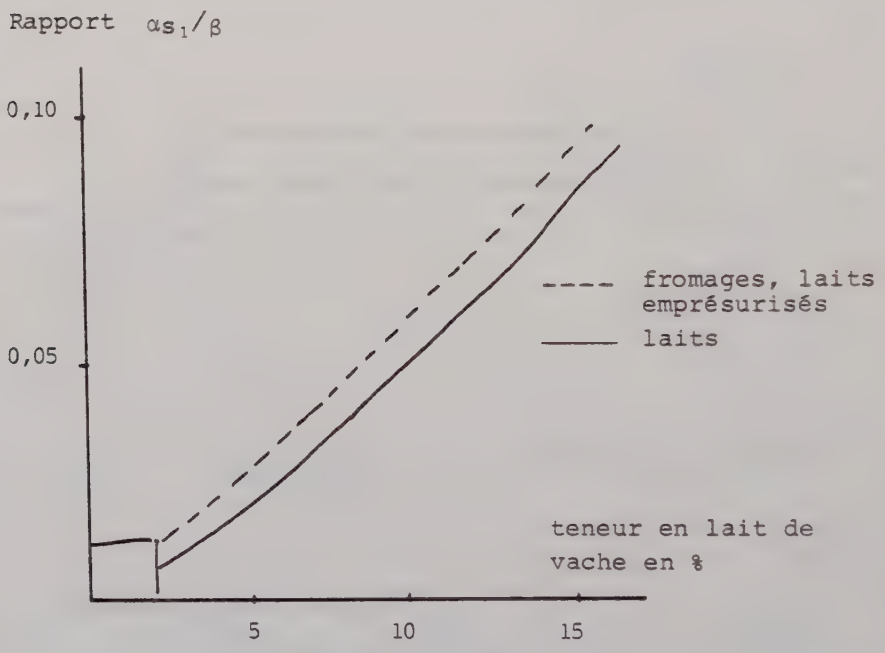
Le pourcentage de lait de vache contenu dans l'échantillon est déterminé à partir du rapport $\frac{\alpha s1}{\beta}$, grâce à une abaque de référence sur laquelle sont portées en ordonnée la valeur du rapport $\frac{\alpha s1}{\beta}$ et en abscisse la teneur en lait de vache du mélange.

Le rapport " α_1 vache / teneur en caséine totale" est calculé en effectuant le rapport des aires correspondant à ces protéines sur la courbe d'absorbance.

Courbe n°4 - Abaque de référence pour le dosage du lait de vache dans le cas où le rapport α_{s^1} / β est supérieur à 0,090 (J.O. 13 avril 1978 - Annexe à l'arrêté du 29 mars 1978)



Courbe n°5 - Abaque de référence pour le dosage du lait de vache dans le cas où le rapport $\alpha s_1 / \beta$ est inférieur à 0,090.



D/ Limites des méthodes officielles

Les domaines d'application des méthodes électrophorétiques et immunologiques sont clairement définis par l'annexe technique du 1er juin 1978 à l'arrêté ministériel du 28 mars 1978.

1) La technique électrophorétique s'applique au lait cru et au lait ayant subi un traitement thermique

quel qu'il soit (déshydratation comprise) ainsi qu'aux fromages frais et affinés sous réserve qu'ils ne présentent pas un état de protéolyse trop avancé.

2) Les méthodes immunologiques s'appliquent au lait cru et au lait chauffé jusqu'à 70°C pendant 20 secondes maximum ainsi qu'à tous les fromages, même ceux en état de protéolyse avancée, préparés à partir de ces laits.

La législation oblige, lors d'analyses officielles, à confirmer un résultat négatif à l'immuno diffusion ou à l'inhibition de l'hémagglutination par l'électrophorèse des caséines, compte tenu de la possibilité d'adultérations par adjonction de laits stérilisés, pasteurisés ou déshydratés.

En avril 1979, l'Inspection Générale des Laboratoires et l'Inspection Générale de l'Action Administrative soumettaient de façon anonyme à quatre laboratoires différents une série d'échantillons de laits et de fromages de chèvre fraudés, à un pourcentage connu.

Trois conclusions se dégagent de l'étude des résultats obtenus et rassemblés dans les tableaux n°XIV et XV suivants :

1°- La nécessité d'une rigueur absolue dans le protocole opératoire, qui assure la reproductibilité et la précision des mesures au sein de laboratoires différents.

Les résultats trouvés sont rarement exacts, mais ils sont tous et toujours très proches de la réalité.

TABLEAU n°XIV - Comparaison des résultats trouvés par quatre laboratoires différents

(11 avril 1979 - Inspection Générale des laboratoires) par électrophorèse

N°s des services administratifs		% théorique lait de vache	SURGERES	MASSY	MONTPELLIER	Laboratoire Central d'Hygiène Alimentaire Paris
Laits	23	8	11	9	9,5	8,5
	24	10	11	10,5	11,0	9
	25	15	15,4	17	15,5	16
	26	2	3,0	3	2,2	4
	27	4	4,6	5	4,2	7
	28	5	6	6	5,7	6,5
Fromages: affinage de 10 j.	29	8	8	9	7,8	8,5
	30	10	9,2	10,5	10,1	11
	31	15	15	17	15,1	16
	32	2	4,5	3	2	4
	33	4	5,1	5	3	2,5
	34	5	5,1	6,5	4,5	5
Fromages: affinage de 20 j.	35	8	8,75	7,5	7,0	8,5
	36	10	8,3	10,5	8,5	9
	37	15	14,3	18	15	14,5
	38	2		2,5	2,5	2
	39	4	4,1	5	5	4
	40	5	6,5	6	4	5

TABLEAU n°XV - Comparaison des résultats trouvés par quatre laboratoires différents par immunodiffusion (Source - Rapport de l'Inspection Générale des Laboratoires (11 Avril 1979)

N°s des Services administratifs		% théorique lait de vache	SURGERES	MASSY	MONTPELLIER	Laboratoire Central d'Hygiène alimentaire Paris
Laits	23	8	6	10	6	7
	24	10	7	10 à 15	10	9
	25	15	11	15 à 20	13	11,5
	26	2	2	2,5 à 5	3	3,3
	27	4	3	5	6	1,6
	28	5	4	5	7	5,7
Fromages: affinage de 10 j.	29	8			8	
	30	10			9	
	31	15			17	
	32	2			3 à 4	
	33	4			4	
	34	5			6 à 7	
Fromages : affinage de 20 j.	35	8			7	
	36	10			8	
	37	15			10	
	38	2			2	
	39	4			3	
	40	5			3 à 5	

écart maximum : 3 % en électrophorèse
(échantillon n°37)
écart maximum : 4 % en I.D.R. (échantillon n°26)

2°- L'imprécision relative de l'I.D.R. par rapport à l'électrophorèse, qui découle certainement du procédé de mesure du diamètre de précipitation.

3°- La valeur de l'analyse électrophorétique des fromages de chèvre affinés depuis moins de 20 jours.

Conclusion -

Deux arrêtés ministériels régissent de façon précise la détection des fraudes du lait de chèvre.

Trois méthodes sont proposées : l'inhibition de l'hémagglutination, l'immunodiffusion radiale et l'électrophorèse des caséines. Seule cette dernière méthode permet d'affirmer de façon formelle et légale qu'un lait de chèvre est pur.

Mais cette analyse électrophorétique est longue (72 heures), délicate et onéreuse, aussi lui préfère-t-on, à l'échelon des laiteries, l'immunodiffusion radiale , de réalisation aisée et plus rapide (48 heures avec coloration).

C'est par cette technique que nous avons voulu apprécier l'importance des fraudes dans une région traditionnelle d'élevage caprin : la Touraine.

TROISIEME PARTIE

APPRECIATION DU NIVEAU DES FRAUDES DANS LE DEPARTEMENT D'INDRE-ET-LOIRE

A/ Fraudes au stade de la production laitière

1) Les prélèvements

Les échantillons nécessaires aux analyses ont été prélevés directement dans les bidons ou tanks, à l'aide de "gobelets" plastiques hermétiques et jetables que nous n'utilisions qu'une seule fois. Chaque prélèvement (20 à 30 ml) est ensuite placé dans une glacière (5.6°C) jusqu'à son arrivée au laboratoire.

Si l'analyse ne peut débuter le jour même les échantillons sont conservés au congélateur (à -20°C).

a) distribution des échantillons

Nous avons procédé à 96 prélèvements de lait dont la distribution est caractérisée dans le tableau n°XVI. Nous entendons par "lait individuel", un lait prélevé chez le producteur au moment du ramassage et avant toute manipulation du transporteur. Les 50 laits individuels repré-

sentent donc 50 exploitants différents, de communes différentes et livrant leur lait à 3 laiteries distinctes (Ligueil, Reignac, Verneuil).

Par "laits collectifs", nous entendons les laits prélevés dans des bidons à l'arrivée des camions au quai de l'usine, ces bidons contenant le produit de 3, 4 ou 6 exploitations à l'époque de notre enquête.

Les dix échantillons prélevés en citerne ont été prélevés à l'arrivée des camions à l'usine.

Tableau n°XVI - Distribution des échantillons analysés

	Nombre d'échantillons	Pourcentage sur l'ensemble
citerne	10	10,41 %
laits individuels	50	52,08 %
laits collectifs	36	37,5 %

b) identification des échantillons

Chaque "gobelet" est marqué de son numéro d'ordre; il n'a jamais été fait mention ni du nom de l'exploitant, ni de celui de sa ferme, ni du numéro des bidons à l'arrivée aux laiteries.

2) Analyses

Toutes les analyses ont été faites par immuno-diffusion radiale type Mancini (technique Levieux), selon le protocole décrit dans la IIe partie.

Le premier jour est consacré à la préparation des échantillons, les boîtes sont ensuite mises à l'étuve à 37°C jusqu'au lendemain.

Le second jour, les boîtes sont lavées pendant 8 heures dans du Na Cl à 9°/$_{oo}$.

Le matin du 3e jour, on procède aux lectures; les mesures sont faites à l'aide d'un vernier.

Pour chaque série d'échantillons, nous préparons une boîte étalon à laquelle peuvent être éventuellement comparées les réactions positives des divers prélèvements.

3) Résultats

16 échantillons (soit 16,66 % de nos prélèvements) contiennent au moins 1 % de lait de vache (10 ml/l).

Ils se répartissent, en fonction du pourcentage de "contaminant" selon le tableau suivant (n°XVII) :

Tableau n°XVII

taux de positivité	1 à 2%	2 à 5%	5 à 10%	10 à 15%
nombre d'échantillons positifs	4	8	2	2

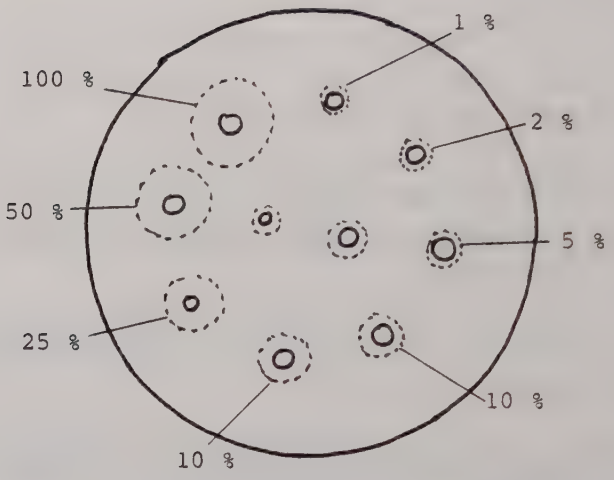


Photo n° 1 -

Gamme étalon

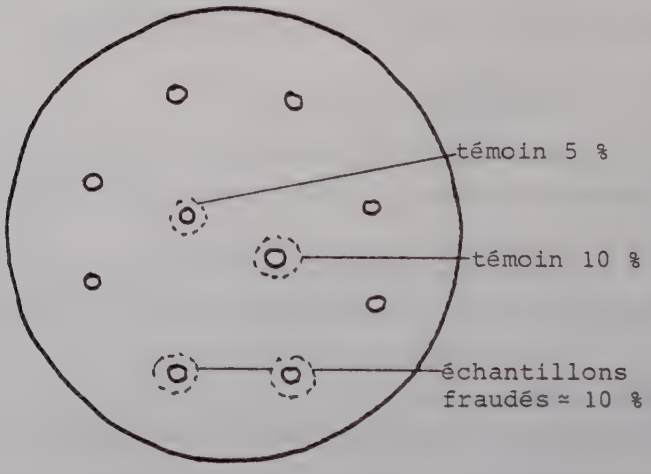


Photo n° 2 -

Tableau n°XVIII - Répartition des échantillons positifs en fonction de leur origine

	Nombre	% par rapport aux échantillons de même type	% par rapport au total des positifs
citernes	2	20 %	12,5 %
collectifs	6	16,66 %	37,5 %
individuels	8	16 %	50 %

Tableau n°XIX - Répartition des échantillons en fonction de leur taux de positivité et de leur origine

Origine de l'échantillon \ taux de positivité	1 à 2%	2 à 5%	5 à 10%	10 à 15%
citernes	2	-	-	-
collectifs	-	4	1	1
individuels	2	4	1	1
TOTAL	4	8	2	2

4) Interprétation

Nous estimons que 5 % de lait de vache est le seuil en deça duquel on ne peut pas parler de fraude mais plutôt de "contamination" ; au-delà par contre, on ne peut exclure une intention frauduleuse.

Une "fraude" de 5 % représente 50 ml pour 1 litre de lait, soit environ la moitié d'un "verre à moutarde" (12 cl) de lait de vache par litre de lait de chèvre. En période de faible production (hiver - début printemps), les petits exploitants livrent 4 à 6 litres de lait par jour ; ils devraient donc, si nous considérons les résultats inférieurs à 5 % comme volontaires, ajouter à leur production quotidienne moins de 0,3 litre (moins de 3 verres) de lait de vache, cela nous semble peu probable.

Par contre, pour de gros producteurs, 5 % représentent déjà une adjonction loin d'être négligeable.

25 % des prélèvements reconnus positifs lors de notre étude contiennent plus de 5 % de lait de vache ; ils constituent donc 4 % de notre échantillonnage total, ce qui est peu.

D'autre part, seuls deux échantillons dépassent 10 % (12 % et 14 %), pourcentages traduisant selon nous ou une fraude ou un accident de traite ou de manipulation.

Les causes de ces mélanges

Deux causes principales peuvent expliquer ces résultats anormaux :

1°- l'inadvertance ou l'ignorance

- Un producteur ou un transporteur versant du lait de vâche dans un bidon réservé au lait de chèvre ;

- L'utilisation des mêmes filtres, des mêmes récipients pour la traite des chèvres après celle des vaches.

Les mélanges ainsi occasionnés sont d'autant plus importants que la quantité de lait de chèvre sera plus faible.

2°- l'intention frauduleuse

- Les chiffres que nous avons trouvés sont trop bas pour pouvoir affirmer de façon péremptoire l'existence de fraudes délibérées. Seuls des prélèvements successifs chez les producteurs ayant livré un lait positif lors de ce dépistage pourraient permettre d'isoler et de différencier les fraudeurs des malchanceux ou des ignorants.

5) Comparaison avec d'autres études

a) En 1975 dans une laiterie du Poitou, MURIS utilisant le "capritest" de DURAND (immuno précipitation en milieu gélosé), a décélé, sur 295 analyses de laits de producteurs, 13 échantillons positifs et 8 échantillons douteux. Ces échantillons ont fait l'objet d'un second contrôle par électrophorèse dont les résultats sont réunis dans le tableau n°XX.

Tableau n°XX - Résultats trouvés par J. MURIS sur 295 analyses de laits de producteurs en 1975

	douteux	5 %	5 à 10 %	10 %
Résultats au capri-test	8	5	4	4
Résultats à l'électro-phorèse	5 à 0 % 2 avec traces 1 à 3,5%	1 à 2% 1 à 3% 2 à 3,5% 1 à 5 %	1 avec traces 1 à 3,5% 1 à 7 % 1 à 10 %	1 à 8,5% 1 à 9,5% 2 à 14%

Sur 173 échantillons collectés à partir de "laits de tournée", le même auteur avec la même technique a trouvé 7 "douteux" qui se sont d'ailleurs révélés négatifs à l'électrophorèse et 12 échantillons qu'il estimait à 5 %, parmi lesquels l'électrophorèse n'a permis d'en confirmer que deux à 3 %.

Tableau n°XXI - Résultats trouvés par J.MURIS, sur 173 analyses de lait de tournée, en 1975, en Poitou

Résultats Capritest	7"douteux"	12 à 5%
Résultats de l'électrophorèse	5 à 0 % 2 avec traces	5 à 0 % 5 avec traces 2 à 3%

L'étude de ces chiffres permet de conclure que 4,4 % des laits de chèvre de producteurs analysés par cet auteur contiennent du lait de vache, mais que seulement 2,37 % en contiennent une quantité supérieure ou égale à 5 %.

Ce chiffre de 2,37 % de "fraude" supérieure à 5 % est plus faible que celui que nous avons trouvé (4 %).

Deux hypothèses pourraient permettre d'expliquer cette différence :

- la date des analyses : période de "pointe" de production pour MURIS : janvier, février, mars pour notre étude
- l'importance plus grande du cheptel caprin en Poitou.

Cette divergence est cependant minime, et il n'est pas sûr, compte tenu des différences d'échantillonnage, qu'elle soit significative.

b) En août 1979, le Service de la Répression des fraudes et du contrôle de la qualité d'Indre-et-Loire a procédé au contrôle de 42 tournées de ramassage de lait de chèvre dans cinq laiteries du département.

Sur 64 échantillons prélevés et analysés par I.D.R., 46 n'ont pas révélé la présence de lait de vache, 10 ont présenté une réaction entre 0 et 1 % et 8 accusent une positivité variant de 2 à 5 % de lait de vache.

Aucun échantillon analysé n'a donc révélé une adjonction de plus de 5 % de lait de vache. Les résultats sont colligés dans le tableau n°XXII.

Tableau n°XXII - Résultats obtenus par le Service de la Répression des fraudes et du contrôle de la qualité d'Indre-et-Loire en 1979

	Nombre d'échantillons prélevés	Résultats obtenus
Laiterie n°1	8	5 entre 0, 1 % 3 à 0 %
Laiterie n°2	18	5 entre 0-1% 3 à 5 % 10 à 0 %
Laiterie n°3	3	2 entre 2 et 5% 1 à 0 %
Laiterie n°4	5	2 à 2 % 3 à 0 %
Laiterie n°5	30	1 à 2 % 29 à 0 %

Conclusion -

L'étude de tous ces résultats, si elle permet d'apprécier à environ 4 % les laits contenant plus de 5 % de lait de vache, ne permet pas d'affirmer qu'il s'agit de 4 % de fraudes. En effet, le pourcentage d'"adjonction" toujours minime (inférieur à 10 %) ne traduit pas forcément une malveillance. Seule la mise en évidence de fraudes quotidiennes à 10 % chez un même éleveur pourrait suggérer une adultération volontaire.

Il est logique que nous n'ayons pas trouvé davantage de laits fraudés, les exploitants connaissent les métho-

des de détection et savent que les laiteries contrôlent inopinément et individuellement leur production.

Aussi était-il nécessaire d'entreprendre l'analyse de fromages, notamment de fromages fermiers, pour pouvoir véritablement juger de l'importance de fraudes éventuelles dans la région.

B/ Fraudes dans la production fromagère

1) Les prélèvements

Cinquante fromages du département ont été achetés (ou prélevés au niveau des laiteries) soit directement chez l'exploitant, soit chez des détaillants locaux ou parisiens.

La distribution de l'échantillonnage est la suivante (tableau n°XXIII).

Lieu de provenance / Type de fromage	Ferme	détaillant tourangeau	détaillant parisien	laiterie	Total
Sainte-Maure	10	3	4	5	22
Pouligny St. Pierre	2	2	2	-	6
Selles-sur-Cher	4	6	2	-	12
Valençay Pyramides	1	4	2	2	8
"Crottin"	-	2	-	-	2

Tableau n°XXIII - Distribution de l'échantillonnage des fromages

Si nous considérons maintenant la répartition de ces fromages selon les circuits commerciaux définis dans la première partie (fermier, affineur, industriel), nous pouvons dresser le tableau n°XXIV ci-dessous.

	Sainte-Maure	Selles	Pouligny	Valençay ou Pyramides	"Crottin"
industriel	7	-	-	3	-
affineur	-	8	3	3	-
fermier	15	4	3	2	2

Tableau n°XXIV - Distribution de l'échantillonnage selon le circuit de distribution

2) Détermination de la teneur en matière sèche des fromages

Pour pouvoir déterminer le pourcentage exact de l'adultération d'un fromage par immuno diffusion radiale, il est nécessaire (LEVIEUX) (24) de multiplier le résultat obtenu par rapport à la gamme étalon par un facteur de correction variant avec l'extrait sec, selon le tableau suivant :

Extrait sec en %	30	40	50	60	70
Facteur de correction	3	2,5	2	1,5	1

Nous avons utilisé dans notre étude, pour le dosage l'extrait sec, une thermobalance Ultra X destinée à la mesure de l'humidité des produits carnés.

a) Principe de la thermobalance

Un rayonnement infra-rouge dont la température peut être réglée entre 70°C et 170°C, provoque la déshydratation d'une quantité donnée d'échantillon ; la perte de poids en résultant est immédiatement mesurée par la balance qui, correctement réglée, affiche directement le pourcentage d'humidité du produit.

b) Mesure de l'extrait sec

Pour chaque fromage, 20 grammes environ sont prélevés et broyés à l'aide d'un mortier et d'un pilon.

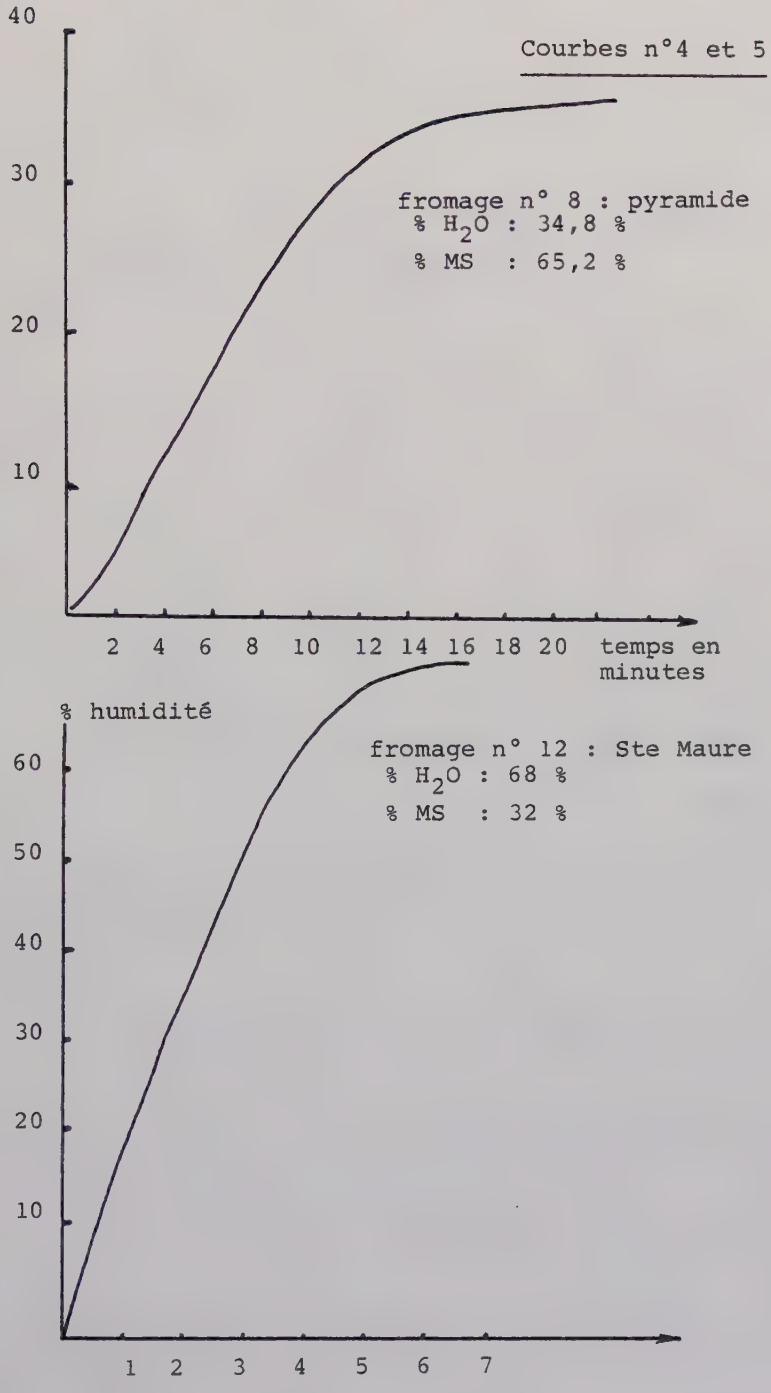
2,5 g du broyat sont déposés et étalés au maximum sur le plateau de la balance ; l'aiguille coïncide alors avec le zéro de l'appareil.

La lampe à infra-rouge est allumée. Nous avons choisi, après quelques tâtonnements, la température optimale correspondant au réglage du potentiomètre à 170 volts.

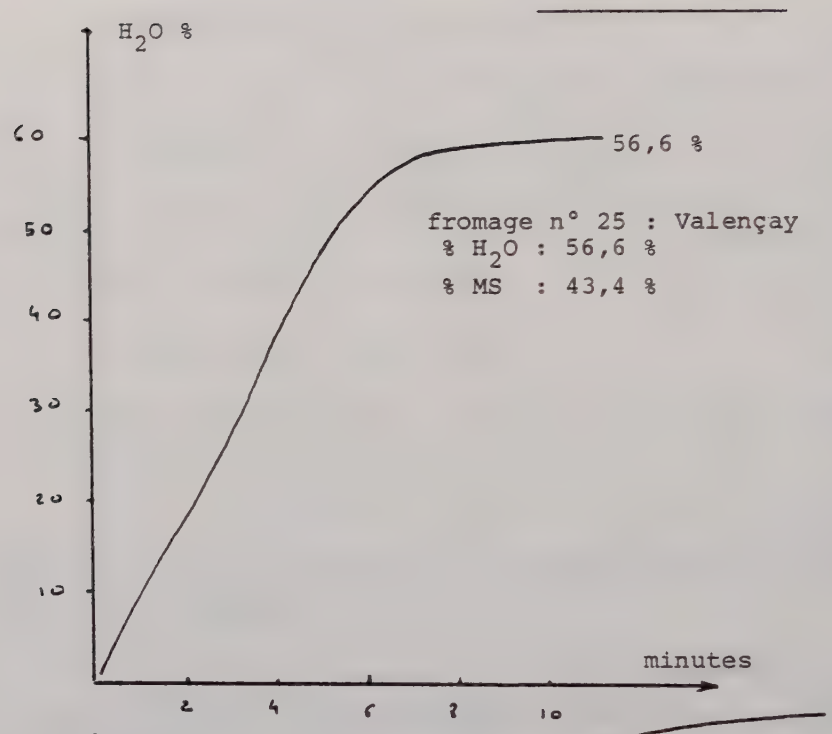
La déshydratation est totale entre 10 et 16 minutes, selon les fromages ; les fromages secs ont une courbe de déshydratation plus plate (cf.courbes n°4, 5, 6, 7).

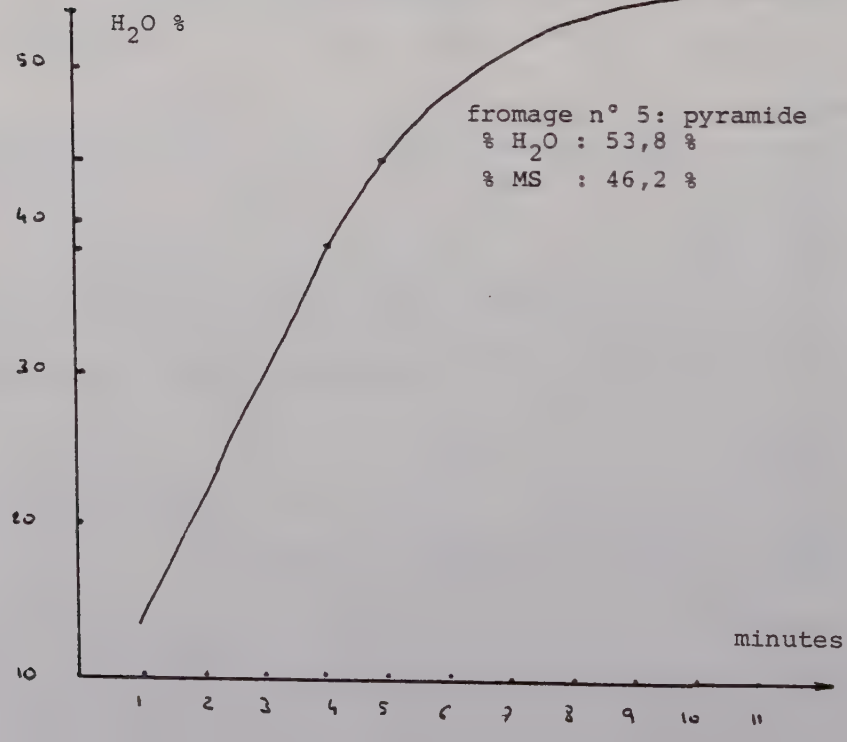
Nous avons suivi la dessiccation au cours du temps, mais il est possible d'attendre simplement la stabilisation de l'aiguille pour lire le pourcentage d'humidité du produit avec une précision suffisante pour notre étude.

Courbes n°4 et 5



Courbes n°6 et 7





Les résultats obtenus avec la thermobalance sont les suivants :

	% MS	n°d'ordre
Sainte Maure	32,8 %	1
	38,6 %	4
	38,8 %	6
	32,0 %	12
	40,4 %	33
Pouligny St.Pierre	32,1 %	21
	30,8 %	45
Valençay Pyramides	46,2 %	5
	65,2 %	8
	43,4 %	25

Les résultats des fromages n°1, 6, 12, 21 et 25 ont été vérifiés par la méthode officielle de mesure de la matière sèche.

c) Mesure de la matière sèche par la méthode officielle

La détermination officielle de l'extrait sec des fromages de chèvre est basée sur la dessiccation complète du fromage dans une étuve à 103° $\pm$ 2°C.

Elle nécessite un appareillage important :

- une balance de précision
- une étuve permettant d'atteindre 103° ± 2°C
- un dessiccateur
- capsules cylindriques en métal inoxydable et baguettes de verre
- sable dit de Fontainebleau purifié par l'acide chlorhydrique à 25 %, lavé à l'eau et calciné à environ 500°C.

Les 5 fromages dont nous avons mesuré l'extrait sec ont été préparés de la même façon que pour la mesure par la thermobalance. Nous avons suivi le protocole de la méthode officielle.

Protocole officiel (31)

- mise à l'étuve pendant une heure de la capsule contenant 20 g de sable et la baguette de verre
- pesée après refroidissement
- pesée au mg près d'un échantillon d'environ 5 g de broyat
- mélange soigneux du fromage broyé et du sable à l'aide de la baguette
- mise à l'étuve pour une nuit
- pesée après refroidissement dans le dessiccateur.

Le pourcentage de matière sèche est alors exprimé par la formule suivante :

$$(M - M_o)\ \frac{100}{E}$$

où M est la masse totale après étuvage
M_o la masse avant étuvage de la capsule
E la masse de l'échantillon.

Les résultats obtenus sont les suivants (tableau n°XXV) :

Tableau n°XXV - Détermination de la MS des fromages par deux méthodes

fromages	% MS : méthode officielle	% MS : thermo-balance
n°1	32,0	32,8
6	35,4	38,8
12	33,4	32,0
21	32,5	32,1
25	41,6	43,4

Les résultats ne coïncident pas parfaitement ; cependant, les valeurs obtenues par les deux méthodes sont proches les unes des autres, la précision par la thermobalance nous semble largement suffisante pour l'appréciation du facteur de correction de Levieux.

La rapidité (15 minutes), la facilité de la mesure à l'aide de la thermobalance justifient pleinement son emploi pour la détermination de la MS dans l'étude des adultérations des fromages de chèvre, face à la complexité de la méthode officielle.

3) Analyses des échantillons

Les fromages sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique VIRTIS, avec de l'acide acétique à pH 4 et du chloroforme, afin d'en extraire les protéines solubles.

Après centrifugation et récupération de la phase limpide, les boîtes sont "ensemencées" de la même façon que pour l'analyse des échantillons de lait.

4) Résultats

8 fromages, sur les 50 analysés, se sont révélés positifs à l'immuno diffusion (tableau n°XXVI).

type de fromage		% mesuré	% réel (x facteur de correction)
Ste.Maure	n°4	2 %	4 à 5 %
	n°6	2 à 4 %	5 à 10 %
	n°12	2 %	5 à 6 %
	n°33	2 %	5 %
Selles s/Cher	n°47	2 %	-
Pyramides	n°5	18 %	36 à 40 %
	n°25	2 à 4 %	4 à 8 %
	n°42	2 %	-

Tableau n°XXVI - Pourcentages de lait de vache dans les fromages analysés

Origine	Nombre	% de lait de vache	type
industrielle	2	4 à 5 % 36 à 40 %	Ste Maure Pyramide
affineur	4	5 % 4 à 8 % 5 % -	Selles s/Cher Pyramide Ste Maure Pyramide
fermier acheté chez un détaillant	2	5 à 6 % 5 à 10 %	Ste Maure Ste Maure

Tableau n°XXVII - Fromages positifs en fonction de leur origine

5) Interprétation

En dehors d'un échantillon contenant manifestement une quantité importante de lait de vache, les fromages que nous avons analysés se sont révélés dans leur grande majorité être de véritables fromages de chèvre.

Nous avons apprécié à 2 % le niveau de contamination des fromages dont l'analyse a révélé une positivité tout juste quantifiable (sensibilité maximale de la méthode pour l'analyse des fromages (31)).

Mis à part l'échantillon n°5, le pourcentage de lait de vache trouvé dans les fromages de chèvre est voisin de

celui trouvé dans les laits de producteur, ce qui signifierait, selon nous, que les "contaminations" des fromages résultent de celles du lait et que les fraudes sont rares, voire inexistantes.

Le fromage n°5 contenant 36 à 40 % de lait de vache était d'origine industrielle ; l'étiquetage ne portait pas la mention "mi-chèvre" ; il s'agit donc d'une véritable adultération ; il peut toutefois s'agir d'un accident de fabrication. Quatre fromages sur les 8 échantillons "positifs" proviennent d'affineurs ; l'absence de contrôle de la part de ces affineurs au moment de la collecte en est peut être la cause.

. Comparaison avec l'étude de "50 millions de consommateurs" en 1972 (34)

Cet organisme a recherché la présence de lait de vache dans 26 fromages de chèvre achetés en 1971, en région parisienne et dans le Centre-Ouest.

6 échantillons sur les 26 analysés (23 %) se sont révélés positifs (5 à 10 % de lait de vache).

. Comparaison avec l'étude de GUILLER, en 1974 (17)

Par immuno précipitation en milieu gélosé (méthode DURAND), cet auteur a analysé 73 échantillons de fromage de chèvre. L'étude de ses résultats permet de conclure qu'un quart des échantillons sont fraudés, que l'adultération la plus fréquente se situe vers 5 %, qu'un échantillon renfermait 50 % de lait de vache ; ces résultats sont rassemblés dans le tableau n°XXVIII.

Pourcentage d'aldutération	1%	5%	10%	25%	25 à 50%
Nombre d'échantillons	2	9	4	1	2
Pourcentage de fromages fraudés	3%	12,3%	5,5%	1,3%	3 %
	= 24 % de fromages positifs				

Tableau n°XXVIII - Résultats obtenus par GUILLER en 1974 sur 73 fromages

Les chiffres que nous avons personnellement trouvés sont moindres ; 16 % des échantillons analysés seulement se sont révélés positifs, dont 75 % contiennent environ 5 % de lait de vache. Si l'on ne peut parler de moralisation du marché puisque la fraude était déjà minime, on note d'après la comparaison de ces résultats une diminution du nombre des fromages "contaminés" et du pourcentage de cette "contamination" en général.

QUATRIEME PARTIE

ELECTROPHORESE DES PROTEINES SOLUBLES EN COLONNE DE GEL DE POLYACRYLAMIDE

ASCHAFFENBURG (1964), ASSENAT (1967), PORTMANN (1971) ont développé leurs recherches dans le sens de l'électrophorèse des protéines de lait de vache et de chèvre. Ces divers travaux ont été couronnés, en 1972, par l'officialisation de la méthode d'électrophorèse des caséines de PORTMANN pour la recherche des adultérations des laits et des fromages de chèvre.

Cependant ces auteurs, notamment ASSENAT, ont montré qu'outre les caséines, les β lactoglobulines par leurs vitesses de migration différentes, permettaient de différencier les laits des espèces bovines et caprines.

Nous avons voulu mettre en évidence par électrophorèse en colonne de gel d'acrylamide et non sur plaque ces différences de migration des protéines solubles et essayer de distinguer par là-même des laits purs de laits fraudés.

1) Rappel sur l'électrophorèse

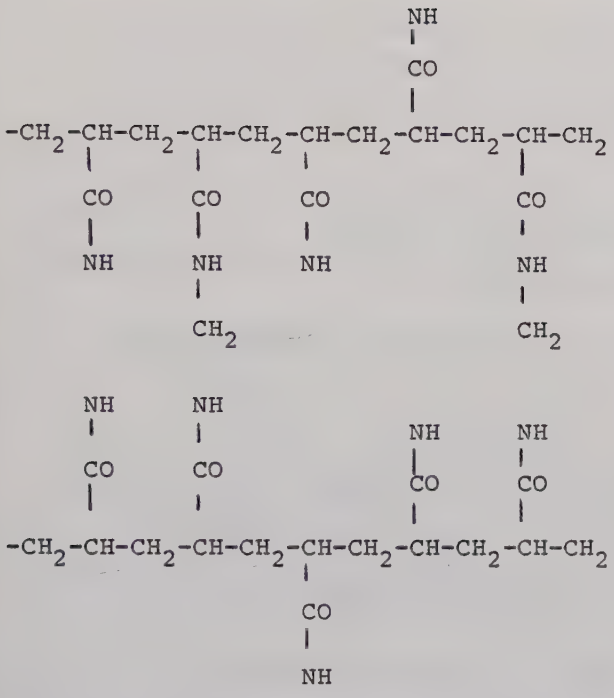
Les protéines sont des macromolécules amphotères, du fait de la présence dans leur structure de radicaux

amino-acides porteurs de fonctions acides et basiques. En milieu acide, elles se comportent donc comme des bases faibles, en milieu alcalin comme des acides faibles.

L'électrophorèse a pour principe l'ionisation, par un tampon, des protéines qui, dans ce milieu et sous l'action d'un champ électrique, se déplacent vers l'un des pôles. Si l'électrophorèse est effectuée à un pH supérieur au pH_i des protéines de la solution, celles-ci se déplacent vers l'électrode positive ou anode.

Depuis l'électrophorèse en veine liquide (ou électrophorèse libre) de TISELIUS en 1930, divers supports ont été utilisés pour étudier la migration électrophorétique des protéines. De nombreux auteurs utilisèrent des supports aussi variés que le coton, le gel d'agar, le gel de silice ; les plus importants furent le papier, le gel d'amidon et surtout le gel d'acrylamide proposé en 1959 par RAYMOND et WEINTRAUB (14).

Le gel d'acrylamide est obtenu par polymérisation d'un monomère principal : l'acrylamide (CH_2 =CH-CO-NH_2) et d'un monomère de liaison, la NN'méthylène bis acrylamide (CH_2= CH-CO-NH-CH_2-NH-CO-CH = CH_2).



Structure du gel d'acrylamide

L'électrophorèse sur gel d'acrylamide, encore appelée électrophorèse sur tamis moléculaire, permet de séparer les protéines en fonction de leur charge et de leur masse ; il s'ensuit une résolution meilleure par rapport aux électrophorèses sur papier, où seule la charge des protéines entre en jeu.

L'avantage de l'électrophorèse en colonne de gel d'acrylamide sur l'électrophorèse sur plaques, réside dans la suppression du courant d'évaporation puisque le gel est entièrement protégé ; cependant, l'échauffement est important, la chaleur étant mal transmise à l'extérieur. La par-

tie axiale du gel étant la plus chaude, la migration y est plus rapide ; la mobilité allant en diminuant jusqu'à la périphérie, les séparations prennent une forme caractéristique en entonnoir.

2) La migration électrophorétique

a) Le matériel utilisé

- Les réservoirs de tampon sont constitués par deux cuves cylindriques de plexiglass (cuve Gelman).

Ces cuves sont superposables. Le fond de la cuve supérieure est percé de 12 trous disposés circulairement à égale distance du centre de la cuve. Chaque trou est garni d'un joint de caoutchouc dont l'orifice est de taille légèrement inférieure au diamètre extérieur des tubes contenant les gels.

Ces cylindres de verre contenant le support d'électrophorèse sont introduits dans les colliers de caoutchouc en forçant légèrement et assurent ainsi l'étanchéité du réservoir supérieur.

Les électrodes, en platine, sont maintenues au centre des cuves par un support en plexiglass.

b) Les réactifs

- Les solutions tampon

Solution tampon Vëronal à pH 8,6 (préconisée par ASSENAT pour l'étude des caséines et reprise par la technique officielle)

. Véronal sodique 40 M 8,247 g
. Véronal acide 8 M 1,473 g
. Eau distillée qsp 1000 ml

La dissolution du Véronal acide, par laquelle il est nécessaire de commencer, est longue et difficile ; nous avons eu recours à un agitateur magnétique.

- La solution d'acrylamide

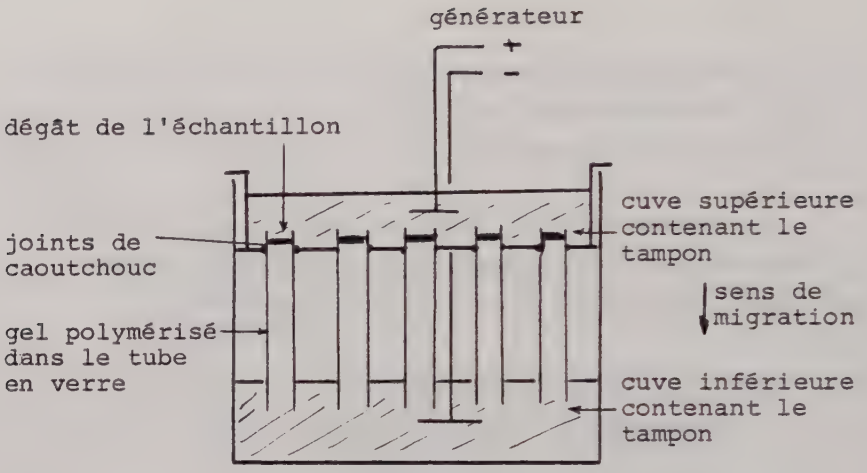
. Cyanogum 41 10 g
. Solution à 10% de DMPAN (diméthyl amino propionitrile) 2 ml)
. Tampon Véronal à pH 8,6 dilué au 1/10 qsp 100 ml
. Ammonium persulfate à 10% 1 ml

Ces quantités permettent d'obtenir la polymérisation du gel d'acrylamide de 36 tubes, en une nuit, à l'obscurité, et à l'abri de l'air (en 5 heures, la polymérisation est suffisante).

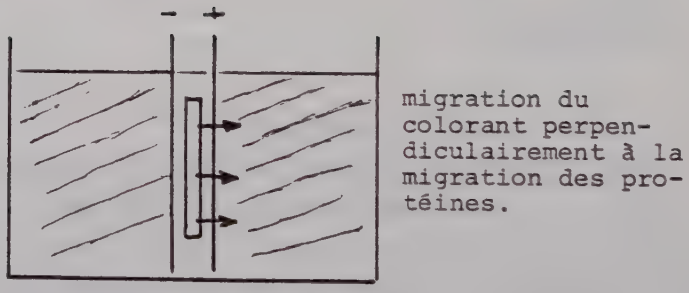
c) Les échantillons

100 µl de "lactosérum" sont mélangés à 100 µl d'une solution de saccharose à 40 %, afin d'augmenter la densité de l'échantillon par rapport à celle du tampon et permettre au dépôt de rester au haut du tube.

3 à 4 gouttes de bleu de bromothymol sont ajoutées à ce mélange pour servir de traceur lors de la séparation électrophorétique.



Cuve d'électrophorèse



Décoloration rapide

Schéma n° 4 - Cuves d'électrophorèse et de décoloration

Schéma n°4- Cuves d'électrophorèse et de décoloration

d) l'électrophorèse proprement dite

Lorsque la polymérisation est terminée, les tubes contenant les gels sont débarrassés du PARAFILM formant leurs extrémités. Les tubes sont alors introduits dans les orifices au fond du réservoir supérieur, de façon telle que le gel baigne bien dans le tampon de la cuve inférieure. La cuve supérieure est alors remplie.

Il est nécessaire de procéder à une prémigration d'une dizaine de minutes (afin d'homogénéiser le pH et la force ionique dans le gel).

Après cette prémigration, les échantillons sont déposés à l'aide d'une micropipette à la surface des gels.

Le courant est fourni par un générateur muni d'un potentiomètre et d'un milliampèremètre, permettant de mesurer son intensité lors de la traversée des gels. Nous utilisons un courant de 10 mA par tube.

Nous arrêtons la migration quand le traceur (bleu de bromothymol) arrive au bas des colonnes de gel.

e) La coloration des gels

- démoulage des gels

Les gels sont sortis des tubes à l'aide d'une seringue munie de son aiguille, en tâchant de faire glisser le gel dans son tube de verre sous l'action de la pression de l'eau distillée contenue dans le corps de la seringue. Cette opération est délicate, les gels sont souvent détériorés par l'aiguille et rendus inutilisables.

Les gels une fois démoulés sont disposés sur un support de matière plastique.

Coloration des gels

Le support contenant les gels est immergé dans la solution colorante suivante :

2 g/l amido-Schwarz dans méthanol : 500 mC
Eau distillée : 500 mC
Acide acétique : 100 mC

Décoloration des gels

Nous utilisons une méthode rapide de décoloration, dans une cuve (Rapid Destainer Gelman) comprenent une double cloison centrale grillagée. Le support de plastique contenant les gels est placé entre les deux faces de la grille, dont l'une est reliée au pôle positif d'un générateur et l'autre au pôle négatif. La cuve est remplie de 5 litres de la solution ci-dessus définie (sans l'amido-Schwarz).

Le générateur une fois branché, il y a électrophorèse du colorant libre qui migre vers l'anode (une des faces de la grille) ; cette méthode ne modifie évidemment pas la migration des protéines puisque la migration du colorant se fait perpendiculairement à celle de l'électrophorèse.

En général une heure suffit pour décolorer les gels.

f) Lecture

Les gels sont alors réintroduits dans les tubes de verre ; à l'aide d'un crayon feutre nous déterminons une

origine sur chaque tube à une distance donnée de la surface supérieure du gel. Les gels sont alors lus par un intégrateur-densitomètre ; une courbe est automatiquement tracée concrétisant par différents pics les diverses fractions protéiques séparées par l'électrophorèse.

Les gels peuvent être conservés si besoin est dans de l'eau distillée et au frais.

La méthode utilisée permet de différencier qualitativement des laits purs de vache, de chèvre et des mélanges de lait de ces deux espèces, à la condition expresse de procéder parallèlement à l'électrophorèse de l'échantillon à celle de deux témoins purs (100 % vache, 100 % chèvre).

Après une migration d'une quinzaine de minutes, la coloration et la décoloration, la lecture du gel permet de visualiser sur le graphique un seul pic pour le lait de chèvre, un seul pic pour le lait de vache, deux pics nettement séparés pour les mélanges (voir courbes n°8).

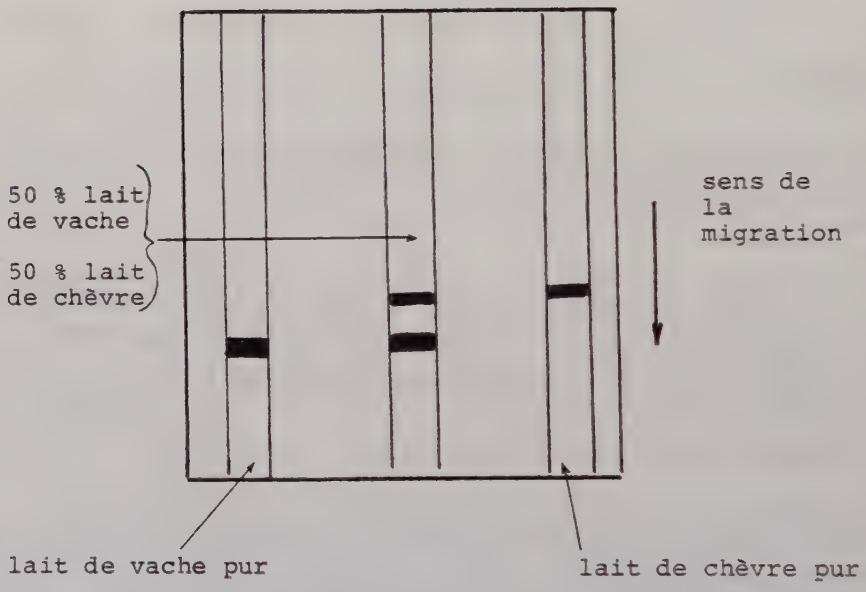
La migration des protéines solubles bovines (2) étant plus importante, le pic caractéristique du lait de vache est le plus éloigné du dépôt (haut du tube).

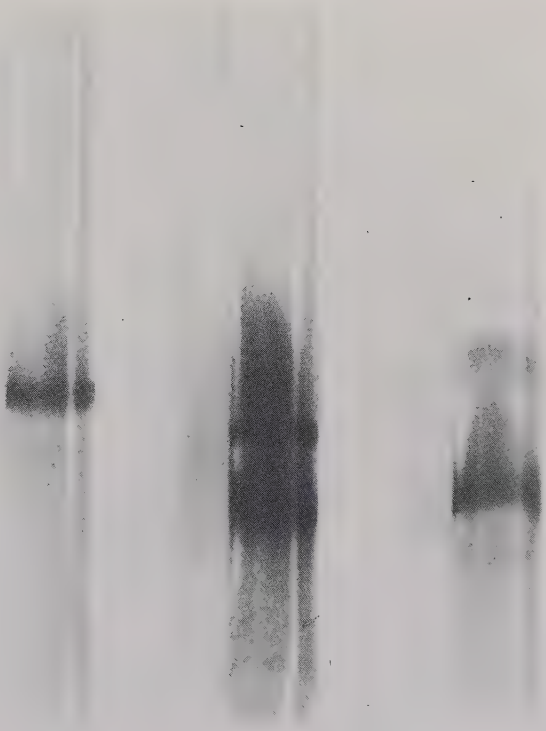
3) Avantages et limites de la méthode

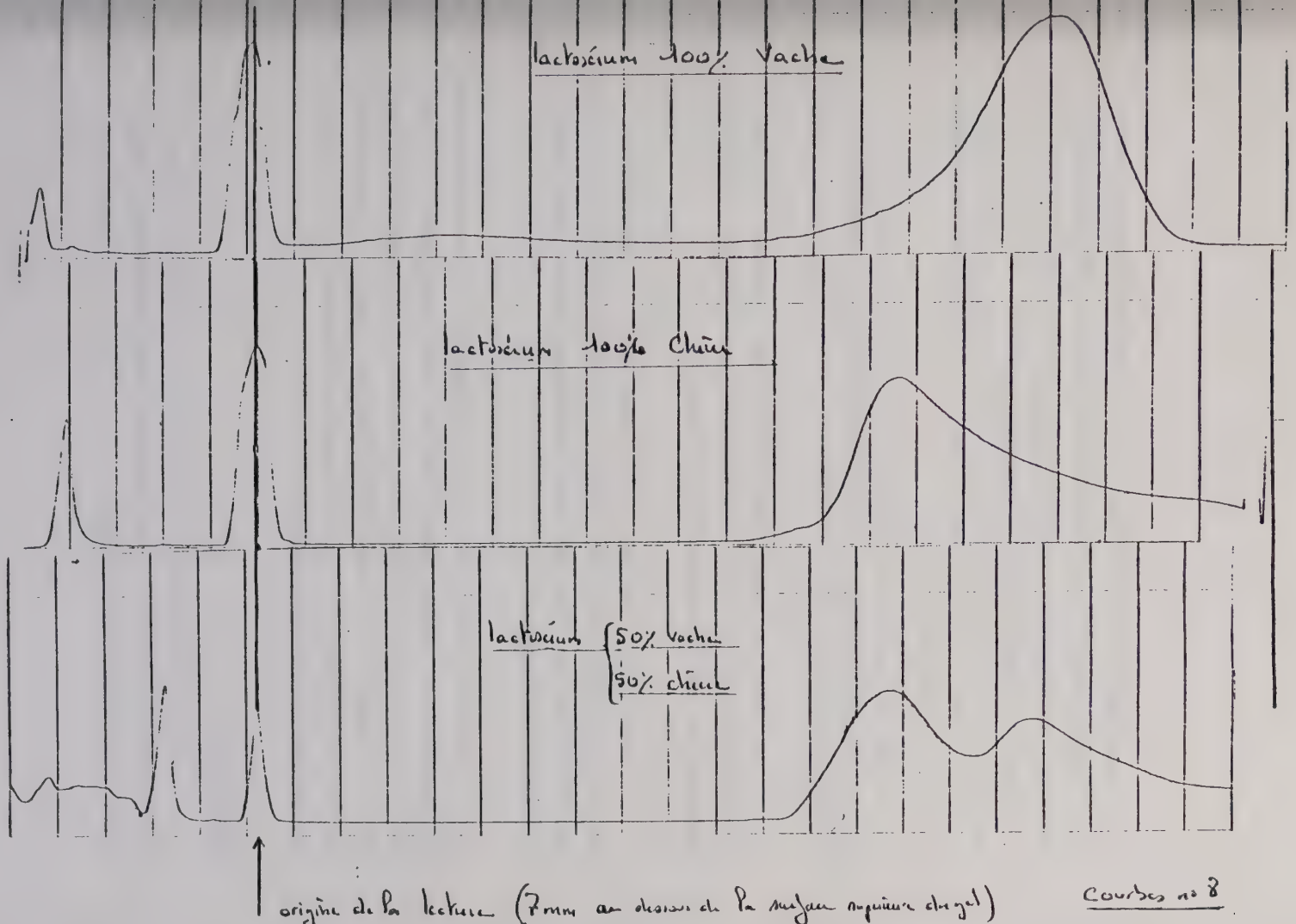
L'électrophorèse en colonne de gel d'acrylamide ne se différencie en rien de l'électrophorèse sur plaques, si ce n'est pas le matériel qu'elle requiert.

L'électrophorèse des protéines solubles que nous venons d'exposer est rapide :

Electrophorèse en colonnes de gel d'acrylamide du lactosérum






lactosérum 100% Vache
lactosérum 100% Chèvre
lactosérum { 50% Vache
50% chèvre
origine de la lecture (7mm au dessus de la surface supérieure du gel)

Courbes n° 8

20 minutes sont nécessaires à la préparation du lactosérum par caillage présure à 37°C et centrifugation

20 minutes environ sont nécessaires à la préparation et à la migration électrophorétique

le démoulage, la coloration et la décoloration demandent environ 1 h 1/4.

En deux heures, il est donc possible d'analyser qualitativement un lait suspect.

Le gain de temps considérable par rapport à la méthode officielle (48 h) résulte de l'utilisation d'un fort ampérage et de la décoloration rapide.

Nous avons utilisé différents gels et différents tampons au cours de notre étude, les meilleures séparations ont été obtenues avec les substances que nous avons mentionnées ci-dessus.

L'étude quantitative de la réaction nécessite outre la constitution d'une gamme étalon, une très grande rigueur dans la réalisation de la manipulation. Le temps alors gagné par rapport à l'électrophorèse des caséines en colonne de gel est minime, et il n'y a plus d'intérêt à utiliser la migration des protéines solubles.

Conclusion -

L'électrophorèse du lactosérum en colonne de gel d'acrylamide permet de différencier qualitativement des laits purs de laits fraudés.

Le coût du matériel est évidemment très élevé et il n'est pas envisageable d'utiliser un tel appareillage pour le dosage d'un ou deux échantillons. Par contre, l'analyse qualitative de nombreux échantillons par cette méthode évite l'emploi des géloses à immuno diffusion relativement onéreuses.

L'appréciation quantitative du niveau de fraude est délicate, voire impossible dans les conditions que nous avons décrites.

CONCLUSION

L'addition frauduleuse du lait de vache au lait de chèvre, passible des peines prévues par la loi du 1er août 1905 sur "la Répression des fraudes dans la vente des marchandises et des falsifications des denrées alimentaires et des produits agricoles" semble rare.

16 % des laits de chèvre que nous avons analysés se sont révélés ne pas être purs ; 4 % d'entre eux seulement contenaient une quantité de lait de vache susceptible de résulter d'une adjonction volontaire.

L'analyse des fromages régionaux : Sainte-Maure, Selles-sur-Cher, Pyramides permet d'affirmer qu'un fromage de chèvre sur 6 ne satisfait pas au Décret du 18 novembre 1971 quant à son origine.

La comparaison des résultats obtenus sur les laits et les fromages de la région tourangelle montre que la fraude intéresse à peine 2 % de la production, mais qu'il existe encore, malgré une législation précise et des techniques de dépistage fiables et efficaces, une proportion non négligeable de fromages qui ne sont pas totalement purs.

Cette "contamination" découle selon nous de la "souillure" des laits de producteurs, ou de l'utilisation lors de la fabrication de levains cultivés sur lait de vache.

L'immuno diffusion radiale nous a semblé, au cours de cette étude, la méthode la plus intéressante pour procéder à ce dépistage en raison de sa simplicité, de son coût modéré et de sa relative précision. Nous avons voulu malgré tout exploiter les propriétés différentes des protéines solubles des laits de vache et de chèvre en étudiant la migration électrophorétique en colonne de gel d'acrylamide des lactosérums. L'électrophorèse des lactosérums permet de différencier des laits purs de laits fraudés d'un point de vue qualitatif uniquement.

-:-

Vu : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur LABIE

Vu : Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE

Vu : Le Président de la Thèse

Professeur ROUX

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 6-11-1980
P/ LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
PAUL SABATIER, et par délégation
LE VICE-PRESIDENT,

Professeur L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

1. ASCHAFFENBURG R.
Protein phenotyping by direct polyacrylamide gel electrophoresis of whole milk.
Biochim. Biophys. Acta 1964, 82, 188-191.

2. ASSENAT L.
Contribution à l'étude d'une méthode d'identification des laits et fromages au moyen de l'électrophorèse sur gel d'acrylamide.
Le lait 1967, 47, 393-414.
1967, 47, 496-502.

3. AUCLERT M., DUSIGNE P., LEFRILEUX F.
Le Sainte-Maure fermier, 1 volume, 62 pages,
Chambre d'Agriculture E.D.E. Indre-et-Loir, 1976.

4. BEAUDET Y.
Technicien caprin E.D.E. Indre-et-Loir,
communication personnelle.

5. BOISGARD-VALLEE C.
La production de fromages de chèvre en Touraine et Berry.
Thèse Méd. Vét.Alfort. 1979.

6. CHAUVEAU F.
Les fromages de chèvre. Etude économique et régionale. 1 volume, 86 pages, Centre Val de Loire, Berry, 1974.

7. CHAUVIGNE A.
Limites de l'ancienne province de Touraine.
1 volume, 45 pages, E. LEFROUX éditeur 1890.

8. CHOLLET A., CAMUS A.
Etude de la matière grasse du lait de chèvre. Son application éventuelle à la recherche du mélange du lait de chèvre et du lait de vache.
Annales des falsifications et des fraudes, 1937 30, 405-410.

9. CHOLLET A., CAMUS A.
Etude de la matière grasse du lait de chèvre.
Annales des falsifications et des fraudes, 1938, 31, 224-225.

10. COULERIE J.P.
Fabrication industrielle du fromage de chèvre. Techniques et débouchés commerciaux.
Thèse doct.méd. vét. Toulouse 1975.

11. DELAGE J., FEHR Ph.
Influence des lipides alimentaires sur la sécrétion des acides gras par la mamelle de chèvre.
Annales de biologie animale, de biophysique et de biochimie, 1967, 4, 437-444 et 445-457.

12. DURAND M., MEUSNIER M., DELAHAYE J., PRUNET P.
Détection de l'addition frauduleuse du lait de vache dans les laits de chèvre et de brebis par la méthode de l'immuno diffusion en gélose.
Bulletin de l'Académie Vétérinaire 1974, 47, 247-258.

13. DUTHEIL H.
Contribution à l'étude des méthodes pour la recherche et le dosage du lait de vache ou de chèvre mélangé à celui de brebis.
1959 - XVe Congrès International de Laiterie Londres, 3, 1521-1528.

14. FARGES M.
Electrophorèse en gel de polyacrylamide. Essai d'application quantitative.
Thèse doct.Pharm. Tours, 1971.

15. FATOUX A.
Où en est le cheptel caprin en France ?
La chèvre 1977, n°98, 12-19.

16. GAILLARD G., HUNIN C.
A propos du fromage de chèvre.
L'industrie laitière 1965, n°217, 14-17.

17. GUILLER A.
Détection de l'addition frauduleuse du lait de vache dans les fromages de chèvre.
Adultérations des laits de chèvre et de brebis.
Colloque du 25 avril 1975, Tours (p.32-35).

18. JARRIGE R., PETIT M., TISSIER M., GUEGUEN L.
Reproduction, gestation et lactation.- chapitre 9, 229-243 in Alimentation des Ruminants, 1 vol., 597 pages, I.N.R.A. Publications 1978.

19. KUZDZAL, SAVOIE S., KUZDZAL W.
La recherche du lait de vache ajouté au lait de chèvre. Application au cas du fromage.
Annales de Technologie Agricole, 1952, 2, 131-144.

20. LARSON B., SMITH V.
Lactation : a comprehensive treatrise - Nutrition and biochemistry of milk. Maintenance.
1 vol., 425 p., Academie Press New-York and London 1974.

21. LEJAOUEN J.C.
L'élevage caprin en France.
1 vol., 72 p., I.T.O.V.I.C., Paris 1976.

22. LEJAOUEN J.C., LEQUENNE D.
La chèvre, 1977, n°102, 13-16.

23. LEJAOUEN J.C., LEQUENNE D.
La chèvre, 1979, n°115, 24-25.

24. LEVIEUX D.
Une nouvelle technique de détection de l'adultération des laits de chèvre et de brebis.
Dossiers de l'élevage 1977, 2, 37-46.

25. MONGET D., GELIN M., LAVIOLETTE P.
Recherche de la xanthine-oxydase appliquée à la mise en évidence du lait de vache ajouté au lait de chèvre. Mise au point d'un microtest.
Le lait, 1979, 59, 117-124.

26. MURIS J.
Essai du capritest.
Adultération des laits de chèvre et de brebis.
Colloque de Tours, 25 avril 1975 (p.26-31).

27. N ....
Essai comparatif. Quel fromage de chèvre ?
Cinquante millions de consommateurs, 1972, 17, 22-26.

28. PORTMANN A., PIERRE A.
L'application de l'électrophorèse en gel de polyacrylamide à la recherche et au dosage du lait de vache dans les fromages de chèvre.
Ann. Fals. Exp Chim. 1971, 64, 159-177.

29. SERRE J.
Le crottin de Chavignol.
Thèse doct. Med. Vet. Alfort. 1973.

30. VEYSSEIRE R.
Techniques laitières. Récolte, traitement et transformation du lait. Pays tempérés, pays chauds. 1 vol. 684 p. 2 édit. Paris, La Maison Rustique, 1966.

31. Documents officiels

- Fromage - Préparation de l'échantillon en vue de l'analyse , détermination de la matière sèche. Contrôle de la qualité des produits laitiers. Analyse physique et chimique 1973, 1 , Chimie VII - 1 Chimie VII - 2.
Ministère de l'Agriculture, Direction des Services Vétérinaires.

- Méthode officielle d'analyse des fromages de chèvre, Journal Officiel 4 août 1972 (8407-8408).

- Annexe à l'arrêté du 29 mars 1978 relatif aux méthodes officielles d'analyse des laits et fromages de chèvre.
Journal Officiel 1er juin 1978 (4262-4266).

- Marque collective régionale : Centre - Val de Loire - Berry - Homologation du réglement technique s'appliquant au fromage de chèvre "Sainte-Maure de Touraine". Recueil des Actes Administratifs et Bulletin d'informatin et de documentation, 1980, n°1, 8.19, Préfecture d'Indre-et-Loire.